Aus der Medizinischen Klinik I des Krankenhauses
Maria Hilf Mönchengladbach
(Chefarzt: Professor Dr. H. E. Reis)

Untersuchungen zur enzym-immunologischen Insulin-bestimmung

Methoden-Vergleich mit dem Radio-Immuno-Assay sowie klinische Anwendung beim Typ-II-Diabetes und chronischer Pankreatitis

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt

von

Friedrich Wilhelm Korsten

1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538105_0005

Aus der Medizinischen Klinik I des Krankenhauses
Maria Hilf Mönchengladbach
(Chefarzt: Professor Dr. H. E. Reis)

Untersuchungen zur enzym-immunologischen Insulin-bestimmung

Methoden-Vergleich mit dem Radio-Immuno-Assay sowie klinische Anwendung beim Typ-II-Diabetes und chronischer Pankreatitis

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt

von

Friedrich Wilhelm Korsten

1982

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Brüster

Referent
gez.: Prof. Dr. Berger

Korreferent
gez.: Prof. Dr. Fritsch

An dieser Stelle möchte ich allen herzlich danken, die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben.

Herrn Prof. Dr. H. E. Reis danke ich für die Überlassung des Themas, die hilfreichen Diskussionen bei der Auswertung der Ergebnisse und die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Herrn Prof. Dr. K. Rudorff danke ich für die Durchführung des Radio-Immuno-Assay-Insulin innerhalb des klinisch-chemischen Labors der Medizinischen Klinik des Ferdinand-Sauerbruch-Klinikums Wuppertal-Elberfeld.

Den Mitarbeitern des klinisch-chemischen Labors der Medizinischen Klinik Franziskushaus des Krankenhauses Maria Hilf, Mönchengladbach, insbesondere Frau Deswarte und Fräulein Heesen danke ich für die gute und entgegenkommende Zusammenarbeit.

Besonderen Dank schulde ich Frau Langenfeld für die Mühe und die Geduld bei der Abfassung des Manuskripts und der Reinschrift dieser Arbeit.

INHALTSVERZEICHNIS:

A. Einleitung S. 5
Zur Entwicklung des Radio-Immuno-Assay S. 8
Zur Entwicklung des Enzym-Immun-Assay S. 10
Klinischer Anwendungsbereich S. 12

B. Methodik und Krankengut S. 13
Methodik
Blutglukosebestimmung S. 13
Oraler Glukosetoleranztest S. 14
Enzym-Immun-Assay-Insulin S. 17
Radio-Immuno-Assay-Insulin S. 20
Krankengut
Normalkollektiv S. 24
Chronische Pankreatitis S. 26
Diabetiker S. 29
Auswertung und statistische Verfahren S. 31

C. Ergebnisse S. 33
Blutglukosestimulation des Normalkollektivs S. 33
Präzisionskontrolle des Enzym-Immun-Assay-Insulin S. 33
Präzisionskontrolle des Radio-Immuno-Assay-Insulin S. 44
Reaktive Insulinämie des Normalkollektivs im Enzym-Immun-Assay S. 47
Reaktive Insulinämie des Normalkollektivs im Radio-Immuno-Assay S. 47
Vergleich des Enzym-Immun-Assay mit dem Radio-Immuno-Assay S. 48
Reaktive Insulinämie des Normalkollektivs (logarithmische Berechnung) S. 51
Korrelationsberechnung S. 57

Klinische Anwendung S. 57
Diabetiker
Vergleich des EIA/RIA bei 8 Diabetikern S. 71
Chronische Pankreatitis S. 71
Vergleich der Patienten mit normalem OGTT und der Patienten mit pathologischem OGTT S. 84
Vergleich mit dem Normalkollektiv S. 85
Vergleich der Patienten mit Pankreasgangveränderungen II. und III. Grades S. 92

D. Diskussion S. 95

E. Zusammenfassung S. 110

F. Literaturverzeichnis S. 113

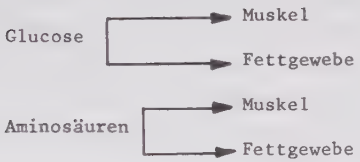
G. Lebenslauf S. 128

A. EINLEITUNG

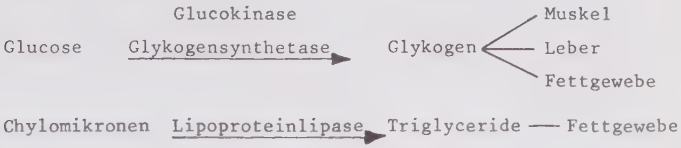
Der B-Zelle des Pankreas kommt eine zentrale Stellung in der Stoffwechselregulation des Säugetierorganismus zu. Dies führt bei verschiedenen Krankheitsbildern über eine Beteiligung der B-Zellen zu Veränderungen der Insulin-Sekretion und damit zu einer Störung der Glukosehomoöstase, der Fettsynthese und anderer insulinabhängiger Reaktionen (Abb. 1).

Abb. 1: Wirkungen des Insulins

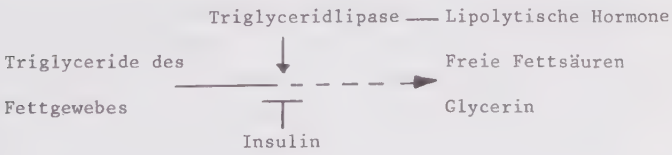
1) Transport der Substrate in die Zellen



2) Induktion von wichtigen Enzymen für die Energiespeicherung



3) Hemmung von Enzymen, welche für die Mobilisierung gespeicherten Substrats verantwortlich sind



Das wichtigste Krankheitsbild, dem eine Verminderung der Insulin-Sekretion (relativ oder absolut) zugrundeliegt, ist der primäre Diabetes mellitus in seinen beiden Formen (Typ I und Typ II). Seltener, im gastroenterologischen Krankengut jedoch zunehmend zu diagnostizieren, ist die sekundäre Form des Diabetes mellitus im Verlauf einer chronischen Pankreatitis und nach verschiedenen operativen Eingriffen an der Bauchspeicheldrüse, z. B. nach Pankreasteilresektion, totaler Pankreatektomie und Pankreasgangligatur (STROHMEYER et al. 1974; LANKISCH et al. 1975; REIS et al. 1980).

Erhöhte Seruminsulinspiegel ohne Stimulation finden sich in typischer Weise als Folge eines Insulinoms. Diesen Fällen liegt in 1 - 2% eine diffuse Inselzellhyperplasie, in ca. 80% mono- oder multifokale Adenome und in 10% ein Inselzellcarcinom zugrunde (MOSS und RHOADS 1960; BERGER et al. 1976).

Reaktive Hyperinsulinämien finden sich bei Überfunktionen diabetogener kontrainsulinärer Hormonsysteme, wie dem Hypersomoatotropismus im Rahmen einer Akromegalie (SOLBACH et al. 1969; SCRIBA und SCHWARZ 1970) und dem Hypercortizismus, sei er primär im Rahmen eines 'Morbus Cushing' (durch Nebennierenhyperplasie, Nebennierenadenom, Nebennierencarcinom), sekundär durch einen Tumor des Hypophysenvorderlappens mit vermehrter ACTH-Bildung oder Folge eines exogen iatrogenen Cushing's (Übersicht bei LABHART 1971; MEHNERT 1978). Die genannten Möglichkeiten einer Störung der B-Zellfunktion begründen die Notwendigkeit sowohl für den Wissenschaftler als auch den Kliniker, den Funktionszustand der pankreatischen B-Zelle durch Bestimmung des Seruminsulins nüchtern und nach Stimulation bestimmen zu können. Zunächst wurden hierzu biologische Metho-

den verwendet, bei denen die Stoffwechselwirkung des Insulins in vivo oder in vitro indirekt als Maß für die Insulinkonzentration gemessen wurden (Insulin-like-Activity = ILA) (Übersicht bei DITSCHUNEIT und FAULHABER 1971). Erste Versuche stammen von BORNSTEIN und LAWRENCE 1951, weitere Publikationen folgten von BAIRD und BORNSTEIN 1959 sowie ANDERSON und Mitarbeitern 1961, die Insulin aufgrund seiner blutzuckersenkenden Wirkung im Tierversuch analysierten. Die Bestimmung der ILA im Tierversuch wurde mit zunehmenden Kenntnissen der Biosynthese und Sekretion des Insulins durch In-vitro-Methoden abgelöst. Diese In-vitro-Methoden nutzten die Insulinwirkung auf Muskel- oder Fettgewebe aus, wobei die konzentrationsabhängige Glukoseaufnahme, die Oxydation von Glukose zu CO_2 oder der Einbau von markiertem Glukosekohlestoff in Glykogen und Triglyceride gemessen wurde (DAWEKE 1964; DITSCHUNEIT und FAULHABER 1971).

Als geeignete Testgewebe wurden hierzu vor allem das Rattenzwerchfell (GROEN et al. 1958; VALLANCE-OWEN 1959) bzw. das epididymale Fettgewebe der Ratte verwendet (PFEIFFER et al. 1961).

Mit zunehmender Verfeinerung dieser Testmethodik fand dann die von RENOLD und Mitarbeitern (1960) entwickelte Methode zur Messung kleinerer Mengen von Insulin-Aktivitäten am Rattenfettgewebe größere Verbreitung.

Die biologischen Methoden erwiesen sich jedoch allesamt als relativ unspezifisch, da mit ihnen lediglich eine insulinähnliche Aktivität (ILA) gemessen wurde. Die ILA wiederum setzt sich aus einem mit Insulinantikörpern hemmbaren und einem mit spezifischen Antikörpern nichthemmbaren Anteil zusammen (FRÖSCH und Mitarbeiter 1967). Ziel der weiteren Forschung war des-

halb die Entwicklung von Methoden, die den spezifischen Nachweis des Insulins gestatteten. Der spezifische Nachweis von Insulin ist jedoch nur mit immunchemischen Methoden möglich. Wie im folgenden innerhalb der Erläuterung zur Methodik näher ausgeführt wird, hängt die Spezifität der Methode von der Spezifität der Antiseren ab. Da diese zu Beginn der Entwicklung einer immunchemischen Insulinbestimmung noch relativ unspezifisch waren, wurden initial neben dem Insulin auch biologisch inaktives Proinsulin und weitere Insulinvorstufen erfaßt (Präproinsulin, C-Peptid, Proinsulin-Insulin-Intermediate).

Die derzeit allgemein angewandte Testmethode des Radio-Immuno-Assays gewährleistet jedoch die spezifische Erfassung des biologisch aktiven Insulins. Als neue, von Radio-Isotopen unabhängige Methode, findet in weiten Gebieten der klinischen Chemie die enzym-immunologische Analyse neuerdings auch zur Bestimmung der Serum-Insulins Anwendung.

Zur Entwicklung des Radio-Immuno-Assays

Das Prinzip der Methodik besteht darin, daß radioaktiv markierte Insulin-Antikörper bekannter Konzentration mit dem in unbekannter Konzentration vorliegenden Insulin als Antigen reagieren. Meßgrößen stellen in diesem System die Radioaktivität des Anteils markierter Antikörper dar, der mit Insulin gebunden ist bzw. der Anteil an Radioaktivität, der durch ungebundene Antikörper repräsentiert wird. Das Prinzip wurde erstmals von YALOW und BERSON (1960) für die Praxis entwickelt. Diese Autoren konnten zeigen, daß sich Insulin radioimmunchemisch mit hoher Empfindlichkeit und reproduzierbar messen läßt. In der Folgezeit sind dann zahlreiche Verfahren zur Radio-Immun-Chemischen Insulinbestimmung entwickelt worden (Übersicht bei MELANI 1971;

FRERICHS 1975), die sich im wesentlichen in der Technik der Trennung des antikörpergebundenen vom nichtgebundenen Insulin unterscheiden. Dabei werden unterschiedliche Trennungsverfahren angewandt, z. B. die bei den Erstbeschreibern (YALOW und BERSON 1960) verwandte Elektrophorese, die Isolierung des freien Insulins mittels andersartiger Adsorbentien, wie Dextran-beschichtete Aktivkohle (HERBERT et al. 1965), die Trennung mittels Bindung des Insulin-Antikörper-Komplexes an Antigammaglobuline (Doppelantikörpermethode nach HALES und RANDLE 1963) sowie in neuerer Zeit durch Verfahren, die das antikörpergebundene Tracer-Insulin durch Bindung an einen Festkörperkomplex extrahieren (sogenannte Immunosorbentmethoden oder Solid-Phase-Technik). Dabei werden grundsätzlich zwei unterschiedliche Verfahren, einmal die Adsorption an Sephadex-G-25-Partikeln (WIDE 1969) sowie die Adsorption an Kunststoffoberflächen (Amberlite CG 400 I) (CATT 1969) beschrieben.

Wie durch die Untersuchung von ASHFORD und Mitarbeitern 1969 sowie MELANI 1971 belegt wird, ist die Präzision der radio-immunologischen Insulinbestimmung nicht von der Wahl eines bestimmten Trennverfahrens abhängig. Aufgrund der Meßgenauigkeit und Reproduzierbarkeit ist demnach keine der oben dargelegten Methoden den anderen Verfahren gegenüber überlegen. Die einzelnen Trennverfahren unterscheiden sich jedoch erheblich hinsichtlich des Zeitaufwandes für die Einzelbestimmung und hinsichtlich der Störanfälligkeit (BÖTTGER und LÖFFLER 1976).

Die Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit des Insulin-Nachweises im Radio-Immuno-Assay wird deshalb in erster Linie von der Spezifität des verwendeten Antiserums, vom Reinheitsgrad des radioaktiv-markierten Insulins und von der ausreichend intensiven Markierung des

Tracer-Insulins bestimmt, ohne daß es dabei zu Einbußen in seinem radio-immunchemischen Verhalten kommen darf (JAHNKE 1977).

Zur Entwicklung des Enzym-Immun-Assays

Der Enzym-Immun-Assay läuft prinzipiell in gleicher Art wie der Radio-Immuno-Assay ab. Statt Markierung mit radioaktiven Isotopen benutzt er jedoch Enzyme zum Nachweis der zu bestimmenden Substrate. Die praktische Durchführung des Enzym-Immun-Assays wurde erstmals 1971 bei der Bestimmung von Immunglobulin G vorgestellt (AVRAMEAS und Mitarbeiter (1971), ENGVALL und PERLMAN (1971), VAN WEEMEN und SCHUURS (1972)). Die Methodik erfuhr 1972 eine Verbesserung durch RUBENSTEIN und Mitarbeiter, die eine Vereinfachung der Durchführung zum Ziel hatte. Seit 1974 sind enzymimmunchemische Teste kommerziell erhältlich und werden in der klinischen Chemie und Serologie vielfach verwendet (z. B. für Schilddrüsenhormone, Antikonvulsiva, Hepatitis-Serologie). Seit 1978 kann auch Insulin mit dieser Technik bestimmt werden.

Wie bei dem Radio-Immuno-Assay liegt der Unterschied gebräuchlicher Methoden des Enzym-Immun-Assays im wesentlichen in den Trennschritten zwischen freiem Antigen und markiertem Antigen. Der sogenannte

h e t e r o g e n e E n z y m - I m m u n - A s s a y

findet sich in zwei Ausführungsmöglichkeiten:
1. dem kompetitiven Immuno-Assay und
2. dem Sandwich-Assay.

Bei dem kompetitiven Immun-Assay konkurrieren enzymmarkiertes und nichtmarkiertes Antigen um die freien

Bindungsstellen an einer definierten Menge Antikörper. Je mehr unmarkiertes Antigen in der Probe vorhanden ist, um so geringer wird das Antigen-Enzymkonjugat an den Antikörper gebunden. Nach Trennung des gebundenen und ungebundenen Antigens wird dann die verbleibende Enzymaktivität wie gewohnt bestimmt. Je mehr Insulin als unmarkiertes Antigen in der Probe vorhanden ist, um so geringer ist die gemessene Enzym-Aktivität.

Bei dem Sandwich-Assay wird nichtmarkiertes Antigen (zu messendes Insulin) an Antikörper gebunden, die an einer Oberfläche fixiert sind. Nach einem Trennschritt zur Entfernung nichtgebundenen Antigens wird dann ein zweiter gegen das gleiche Antigen gerichteter enzymmarkierter Antikörper zugesetzt. Je mehr Antigene die zu bestimmende Probe enthält, um so höher ist die Enzym-Aktivität.

Beim
h o m o g e n e n E n z y m - I m m u n - A s s a y
finden die immunologische Reaktion (1. Reaktionsschritt) und die Enzymreaktion (2. Reaktionsschritt) im gleichen Ansatz statt. Durch die Antigen-Antikörper Komplexbildung findet durch die sterische Anordnung der Molekülkonfiguration entweder eine Hemmung der Enzymaktivität, wie z. B. bei der Bestimmung des Carcinoembryonalen Antigens statt, oder aber die Enzymaktivität wird durch diese Molekülkonformation wie bei der Bestimmung des Thyroxins gefördert. In dieser Art der Assay-Technik braucht die Trennung zwischen freiem Antigen und markiertem Antigen nicht zu erfolgen.

Als Indikator werden zur Zeit folgende Enzyme verwandt: Meerrettich-Peroxydase, alkalische Phosphatase, Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase, Malat-Dehydrogenase, Lysozym-

und Glukose-Oxydase. Für fluorimetrische Bestimmungen wird Beta-Galaktosidase verwendet.

Die Vorteile der Enzym-Immun-Assays gegenüber dem Radio-Immuno-Assay bestehen einmal im Fehlen radioaktiver Abfälle sowie zum anderen in der Stabilität der Enzyme, die in der Regel eine Haltbarkeit von 2 - 3 Jahren aufweisen, während die radioaktiven Isotopen sehr kurzlebig sind und langlebige Radio-Isotope die Probleme der Entsorgung verstärken. Die Vorteile der Enzym-Immun-Assays sind weiterhin die Möglichkeit durch Anwendung verschiedener Markierungsenzyme innerhalb eines Ansatzes mehrere Parameter gleichzeitig zu erfassen (WISDOM 1976) sowie durch die Einführung des homogenen Enzym-Immun-Assays eine Automatisierbarkeit des Reaktionsablaufes durchzuführen (FINLEY und Mitarbeiter 1976; HAECKEL und ÖLLERICH 1977; VOGT und Mitarbeiter 1977).

Klinischer Anwendungsbereich

Wie einleitend bereits erwähnt, nimmt die B-Zelle des Pankreas eine zentrale Stellung in der Stoffwechselregulation ein. Die Bestimmung des Serum-Insulins ist deshalb wissenschaftlich und klinisch von Interesse bei Syndromen, die durch einen Insulinmangel bedingt sind und solchen, die durch einen Hyperinsulinismus verursacht werden. Zahlenmäßig in der klinischen Routine am häufigsten sind die Syndrome des Insulinmangels und hier in jedem internistischen Krankengut der primäre Diabetes mellitus, während in schwerpunktmäßigen gastroenterologischen Zentren auch der sekundäre Diabetes im Rahmen einer chronischen Pankreatitis oder aber nach Pankreasoperationen eine Rolle spielt. Dabei kann die Kenntnis der Insulinreserve des Pankreas aus klinischen und pathophysiologischen Gründen wünschenswert sein.

Weiterhin ist die diagnostische Sicherung eines Hyperinsulinismus von dem sicheren Nachweis erhöhter Insulinspiegel abhängig.

Bei dem Aufbau einer enzym-immunologischen Methodik zur Insulinbestimmung sind wir deshalb durch die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen folgenden Fragen nachgegangen:

1. Wie verläßlich ist der Enzym-Immun-Assay-Insulin?
2. Welche Ergebnisse zeigen die Bestimmungen des Seruminsulins mittels Enzym-Immun-Assay unter oraler Glukosestimulation?
3. Was ergibt der Vergleich der Insulinbestimmung mittels Enzym-Immun-Assay und Radio-Immuno-Assay im Verlauf der oralen Glukosebelastung?
4. Welche Ergebnisse zeigen die enzym-immunologischen Bestimmungen des Insulins unter oraler Glukosebelastung bei Diabetikern und sind sie mit den Bestimmungen durch den Radio-Immuno-Assay vergleichbar?
5. Welche Resultate ergibt die enzym-immunologische Insulinbestimmung im Verlauf der oralen Glukosebelastung bei der chronischen Pankreatitis?

B. METHODIK UND KRANKENGUT

Methodik

Blutglukosebestimmung

Prinzip

Die Blutglukosebestimmung wurde nach der Hexokinase-Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Reaktion durchgeführt. In einer Hilfsreaktion wird Glukose durch Hexokinase

phosphoryliert und das gebildete Substrat (Glukose-6-Phosphat) in der nachfolgenden Indikatorreaktion durch Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase dehydriert.

$$\text{D-Glukose} + \text{ATP} \xrightarrow[Mg^{++}]{\text{Hexokinase}} \text{D-Glukose-6-Phosphat} + \text{ATP}$$

$$\text{D-Glukose-6-Phosphat} + NADP^{+} \longrightarrow \text{6-Phospho-Glukonat} + \text{NADPH} + H^{+}$$

Die gebildete Menge NADPH, die aus der Extinktionszunahme bei 365 nm errechnet wird, entspricht stöchiometrisch der umgesetzten Glukosemenge.

Spezifität

Die Methode ist in Abwesenheit von Glukose-6-Phosphat spezifisch für D-Glukose. Die Spezifität beruht auf der Reinheit der Hilfsenzyme (RICK 1974; BERGMEYER 1974).

Durchführung

Zur Durchführung der Blutglukosebestimmung wurden je 1,5 ml Venenblut (hämolysefrei) entnommen und als Doppelbestimmung auf eine mitgeführte Glukose-Standard-Lösung bezogen. Zur Verhinderung weiterer glykolytischer Aktivität ist den Probenröhrchen NaF und als Gerinnungshemmstoff K-EDTA zugesetzt.

Oraler Glukosetoleranztest (OGTT)

Prinzip des OGTT

Bei gegebener Indikation wird heute hauptsächlich der orale Glukosetoleranztest durchgeführt. Die intravenöse Glukosetoleranztestung bleibt ebenso wie Untersuchungen unter Stimulation mit Sulfonylharnstoffen (z. B. Tolbutamid-Test oder Glibenclamid-Test) sehr seltenen Fragestellungen vorbehalten.
Das Verhalten des Glukosespiegels im Blut nach Belastung mit einer oral zugeführten Glukosemenge erlaubt

Rückschlüsse auf die Aktivität und Leistungsfähigkeit des blutzuckerregulierenden endokrinen Systems. Zur standardisierten Durchführung dieses Tests und zur Reproduzierbarkeit sind in letzter Zeit einige neuere Arbeiten erschienen, die hier Berücksichtigung finden (WHO 1980; HASLBECK 1981). Zur Interpretation der gefundenen Ergebnisse wird in der Diskussion Stellung genommen werden.

Durchführung

Nach entsprechender Vorbereitung (ausreichende kohlehydrathaltige Ernährung von ca. 200 g Kohlehydraten pro Tag während der letzten 3 Tage vor der Durchführung des Testes und einer anschließenden Nüchternperiode von ca. 10 - 14 Stunden) wurde die orale Glukosebelastung mit einem handelsüblichen Testbesteck (Dextro-o.GT der Firma Pomps) durchgeführt. Dabei wählten wir zur Durchführung der Glukosebelastung einen Probetrunk, der 100 g Glukose oral entspricht, da wir uns auch in der Auswertung an die unter 100 g Glukose erarbeiteten Kriterien hielten (GUTSCHE et al. 1975). Eine Durchführung nach dem WHO-Report 1980 mit 75 g Glukose erfolgte somit nicht. Die Zusammensetzung des Testtrunks entspricht 14 g Glukose, 14 g Maltose, 12 g Maltotriose und 50 g höherer Oligosaccharide in 400 ml Wasser. Dies entspricht einer Gesamtglukosebelastung von 100 g Glukose (OWENS et al. 1979 s. d.; HASLBECK 1981 Int.).

Die Testpersonen wurden nach Nahrungskarenz von ca. 12 Stunden aufgefordert, den Testtrunk innerhalb von 5 Minuten vollständig zu sich zu nehmen. Nach vorheriger Blutentnahme im Nüchternzustand wurden jeweils nach 30, 60 und 120 Minuten über großkalibrige Stahlkanülen zur Vermeidung von Hämolyse wechselnd aus der rechten und linken Cubitalvene 20 ml Blut entnommen

und in markierte Probenröhrchen überführt. Bei jeder Blutentnahme wurden 1,5 ml Blut zur Blutglukosebestimmung in mit K-EDTA und NaF beschichtete Röhrchen gefüllt.

Die restliche Blutmenge wurde in zwei Proben aufgeteilt. Eine diente der Durchführung des Enzym-Immun-Assay-Insulin in unserem Labor. Ihre Verarbeitung erfolgte sofort nach der Zentrifugation. Die weitere Probe wurde nach Zentrifugation und Entnahme des Überstandes bis zur Durchführung des Radio-Immuno-Assay im klinischen Labor des Ferdinand-Sauerbruch-Klinikums in Wuppertal-Elberfeld bei -18°C eingefroren. Nach LIVESEY (1980), der die Stabilität von Insulin bei Lagerung in einer Temperatur von 4°C über 8 Tage untersuchte, ist ein Aktivitätsabfall nicht zu erwarten. Im übrigen wurde die Kühlkette bis zur endgültigen Weiterverarbeitung nicht unterbrochen (Transport im Kühlbehälter, zusätzliche Verwendung handelsüblicher geschlossener Kühlbatterien!).

Während der Durchführung des Tests nahmen die Probanden eine bequem sitzende Stellung ein. Die untersuchten Diabetiker standen unter einer sollkalorischen Diabetes-Diät von 200 - 240 g KH/d bei einer durchschnittlichen Nährstoffrelation von 40 - 45% Kohlenhydrate, 35 - 40% Fett und 20% Eiweiß.

Interpretation

Entsprechend der Durchführung der oralen Glukosetoleranztestung mit 100 g Glukose erfolgte auch die Auswertung in Anlehnung an die von GUTSCHE und Mitarbeiter (1975) sowie von HASLBECK (1981) empfohlenen Kriterien. Danach wird bei einem Blutglukosewert von < 200 mg/dl nach 1 Stunde und einem Wert von < 140 mg/dl nach 2 Stunden eine normale Glukosetoleranz

angenommen.

Enzym-Immun-Assay-Insulin

Im Jahre 1971 wurde von mehreren Autoren (AVRAMEAS 1971; ENGVALL und PERLMAN 1971, VAN WEEMEN und SCHUURS 1971) erstmals ein neuer quantitativer Immuno-Assay beschrieben, bei dem radioaktive Isotope als Markierungsmittel durch Enzyme ersetzt wurden.

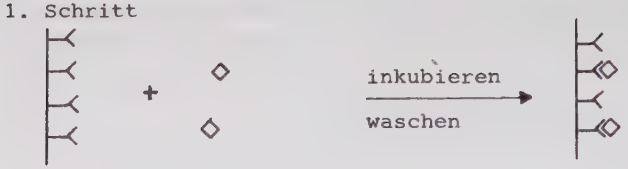
Prinzip

In der vorliegenden Untersuchung verwendeten wir den handelsüblichen 'Enzymun-Test^{R} Insulin' der Firma Boehringer Mannheim.

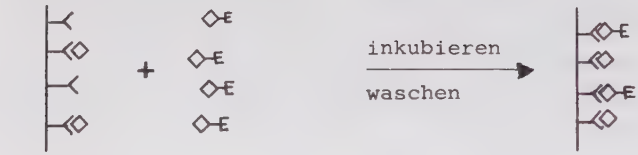
Freies, nicht markiertes Insulin (der Probe) reagiert mit Antikörpern, die an der Wand von Kunststoffröhrchen fixiert sind. Nach Inkubation und Entfernung des Serums durch Spülung wird Enzym-markiertes Insulin (Peroxydase) zugesetzt. Nach Entfernen des im Überschuß vorhandenen restlichen markierten Insulins, kann die wandgebundene Enzymaktivität nach Zusatz von Substrat photometrisch gemessen werden. Die gemessenen Konzentrationen des Enzyms sind umgekehrt proportional der gebundenen Menge freien Insulins und können nach Erstellung einer Eichkurve mittels verschiedener Standardkonzentrationen bestimmt werden.
Es handelt sich um einen sogenannten heterogenen kompetitiven Enzym-Immun-Assay.

Reaktionsschema

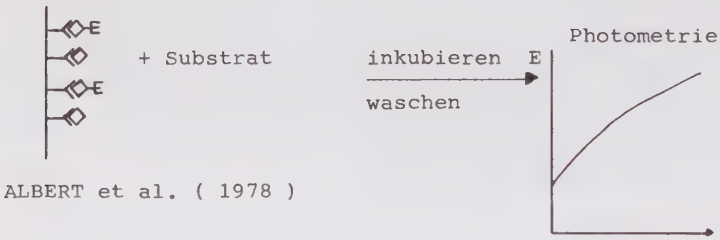
1. Schritt



2. Schritt



3. Schritt



ALBERT et al. (1978)

◇ = Antigen ⊢< = wandständiger Antikörper

◇-E = enzymmarkiertes Antigen

Durchführung

Reagentien, Lösungen und Geräte

Das von der Firma Boehringer Mannheim angebotene Testbesteck enthält:

1. Inkubationspuffer (Phosphat-Puffer), der nach Zufügen von ca. 100 ml Aqua dest in einer Konzentration von 40 mmol/l, pH 6,8 vorliegt und bei +4°C ca. 4 Wochen haltbar ist (Angabe des Herstellers).
2. Insulin-POD-Konjugat (POD = Peroxidase).
3. Konjugat-Puffer, die nach Zufügen von 1 ml Aqua dest (2) bzw. 100 ml Aqua dest (3) und nach Mischen im Verhältnis 1 + 100 bei 15 - 25°C ca. 8 Stunden, bei 4°C ca. 24 Stunden haltbar sind.
   Zusammensetzung: Phosphat-Puffer 40 mmol/l, pH 6,8, Rinderserumalbumin 0,25%.
   Peroxidase (Meerrettichperoxidase bzw. horseradish-peroxidase) ca. 15 U/l.
4. Substrat und
5. Substrat-Puffer, die nach Mischen und Auffüllen mit ca. 100 ml Aqua dest bei +4°C ca. 4 Wochen haltbar sind.
   Zusammensetzung: Phosphat-Citrat-Puffer 100 mmol/l, pH 5,0, Natriumperborat 1,47 mmol/l, ABTS^{R}: 14 mmol/l (= 2,2'-Azino-di 3-äthyl-benzthiazolin-sulfonsäure-diammonium-Salz).
6. a - e: Insulin-Standards
   Zusammensetzung: Insulin in Humanserum. Konzentration laut Etikett (z. B. 5, 15, 35, 90 und 130 µU/ml) jeweils 1,5 ml Aqua dest zufügen.
7. Kontrollserum
   Zusammensetzung: Insulin in Humanserum. 1,5 ml Aqua dest zufügen.
   Sollwert laut Etikett, Haltbarkeit bei -20° 6 Monate.

Außerdem Kunststoffröhrchen (polystyrene tubes) mit Meerschweinchen-Anti-Insulin-Antikörpern beschichtet. Beutel mit Trockenmittel, Polyethylenstopfen, Öffner.

Nach Pipettieren von 0,2 ml der Proben, der Standards und des Kontrollserums (jeweils Doppelbestimmungen), werden die Röhrchen mit 1,0 ml Konjugat-Puffer gefüllt und bei +2 bis +8°C über 16 - 24 Stunden inkubiert. Danach wird der Inhalt abgesaugt und einmal mit Leitungswasser gespült.

Im Anschluß daran wird 1,0 ml Konjugatlösung zugefügt und erneut 2 Stunden lang bei +2 bis +8°C inkubiert. Nach Absaugen und Spülung mit gekühltem Leitungswasser erfolgt die Pipettierung von 1,0 ml Substratlösung und danach die Inkubation von 60 Minuten bei 20 - 25°C.

Nach Photometerabgleich gegen den Leerwert (Substratlösung) wird die Messung der Extinktion bei 405 nm im gleichen Zeitintervall wie bei der Pipettierung durchgeführt.
Die Absolutwerte werden aus einer mittels der mitgelieferten Insulinstandards erstellten Eichkurve abgelesen.

Radio-Immuno-Assay-Insulin

Prinzip
Der erstmals von YALOW und BERSON 1960 beschriebenen Technik liegt ein gleichartiges Prinzip zu Grunde wie es auch beim Enzym-Immun-Assay Anwendung findet.

Den an eine feste Phase gebundenen spezifischen Insulinantikörpern wird die zu bestimmende Probe des Antigens (hier Insulin) zugesetzt. Im zweiten Reaktionsschritt wird dann radioaktiv-markiertes Antigen zugesetzt. Dies besetzt dann die Antikörperbindungsstellen, die von Antigenen der Probe nicht benetzt wurden.

Nach Entfernen des im Überschuß zugegebenen radioaktivmarkierten Antigens verbleibt im Testansatz nur noch die Radioaktivität, die durch das markierte Antigen gebunden an den wandständigen Antikörper repräsentiert wird. Im 3. Schritt erfolgt dann die Messung der Radioaktivität mittels Szintillationszähler. Dabei ist die Zahl der counts/min. umgekehrt proportional der Menge des zugegebenen Antigens. Wie auch bei der enzymatischen Bestimmungsmethode ist die absolute Menge des gebundenen Antikörpers nicht relevant solange zwei Voraussetzungen erfüllt bleiben:

1. Es besteht ein Überschuß an Antikörpern in Bezug auf die zu erwartende Menge an Antigen.
2. Innerhalb einer Probenserie und der zu ihrer Bestimmung verwendeten Standardlösungen zur Erstellung der Eichkurve sind alle Probengefäße innerhalb enger Grenzen mit der gleichen Anzahl von Antikörpern beschichtet bzw. beschickt.

Anmerkung: Daraus folgt, daß Testbestecke zweier unterschiedlicher Chargen nicht untereinander ausgetauscht werden können.

Durchführung

Zur Anwendung gelangte das kommerziell angebotene Testbesteck 'Phadebas Insulin Test' der Firma Pharmacia AB, Upsala, Schweden. In diesem Test ist die Trennung des gebundenen von ungebundenem Insulin relativ einfach, da die spezifischen Antikörper durch kovalente Bindung an die feste Phase (hier Sephadex G 25 Partikel) gebunden sind und durch Zentrifugation getrennt werden können (WIDE und PORATH 1966).

Die im Rahmen des Glukosetoleranztest parallel zur enzymatischen Insulinbestimmung gewonnenen Proben wurden unter Beachtung der Hämolysefreiheit zur Verhinderung erythrozytärer Enzymfreisetzung und insu-

linaseähnlicher Aktivität nach Zentrifugation abgesert und bei -18°C tiefgefroren.

Nach Zusammenstellung einer ausreichenden Anzahl von Proben wurden die Probengefäße bei aufrechterhaltener Kühlkette unter Verwendung von Isoliergefäßen und Temperaturkonstanthaltung durch herkömmliche Kühlmittelbatterien zur weiteren Verarbeitung zur Medizinischen Klinik des Ferdinand-Sauerbruch-Klinikums, Wuppertal-Elberfeld, übermittelt.
Bezüglich der Stabilität des Insulins im hämolysefreien Serum weisen wir auf die Arbeiten von LIVESEY (1980) hin, wonach die Insulinkonzentration bei Lagerung in einer Temperatur von +4°C über 8 Tage konstant bleibt.

Die Stabilität von Insulinproben bei -20°C wird allgemein mit ca. 6 Monaten angegeben.

Das oben beschriebene Testbesteck 'Phadebas Insulin Test' der Firma Pharmacia AB, Upsala, Schweden, enthält nachfolgende Lösungen, die jeweils durch Zugabe von Aqua dest zu den lyophylisierten Reagentien rekonstruiert werden.

1. Puffersubstanz
   enthalten albuminhaltigen Phosphatpuffer, der in 200 ml Aqua dest gelöst wird. pH 7,4. Haltbarkeit bis zum angegebenen Verfalldatum bei 2 - 8°C.
2. Sephadex-Anti-Insulin-Komplex
   Lösung des gesamten lyophilisierten Sephadex-Anti-Insulin-Komplexes in obiger Pufferlösung (100 ml) und Überführung in ein Becherglas. Haltbarkeit bei 2 - 8°C bis zum angegebenen Verfalldatum.

3. Insulin-Standard
   Der lyophylisierte Insulin-Standard wird mit 4,0 ml redestilliertes Wasser rekonstituiert. Diese Lösung enthält dann 320 µU Insulin/ml und erlaubt die Herstellung von 2 Eichkurven in Doppelbestimmung.
4. Insulin 125 J
   Das lyophylisierte Insulin ^{125}J wird durch Zugabe von 10 ml der angesetzten Pufferlösung rekonstituiert. Die Lösung ist bei 2 - 8°C ca. 8 Tage, bei -20°C bis zum angegebenen Verfalldatum haltbar.

Zu 100 µl der Proben werden 100 µl ^{125}J-Insulin und 1 ml Sephadex-Anti-Insulin-Komplex gegeben und die Röhrchen nach Verschließen über mindestens 4 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Zentrifugation über 2 x 2 Minuten bei 2000 g Entfernung des Überstandes durch Absaugen mittels Absaugnadel und Wasserstrahlpumpe. Danach erfolgt 3-maliges Waschen mit je 2 ml einer 0,9%-NaCl-Lösung mit anschließender Zentrifugation und Entfernung des Überstandes. Die verbleibende Radioaktivität wird mit einem Szintillationszähler über 1 Minute gemessen.

Aus der in der Testreihe mitbestimmten Standard-Insulin-Konzentrationen, die aus Verdünnung der Ursprungsstandardlösung (mit 320 µU/ml) mit 500 µl Pufferlösung auf die Hälfte in 8 Schritten hergestellt wurden und die Konzentrationen von 320 µU/ml, 160 µU/ml, 80 µU/ml, 40 µU/ml, 20 µU/ml, 10 µU/ml, 5 µU/ml und 0 µU/ml (0,5 ml Pufferlösung) enthalten, läßt sich nun eine Eichkurve erstellen, indem aus den mittleren Zählraten (counts/min.) der im Dreifachansatz gemessenen Standard-Insulin-Konzentrationen auf semilogarithmischem Papier (Logit-log-Papier der Firma Pharmacia) die entsprechenden Werte als Prozentwerte der mittleren Zählrate des Leerwertes (= 100%) gegen die vorge-

gebenen Insulinkonzentrationen aufgetragen werden. Die so erhaltene Gerade erlaubt dann aus der Zuordnung der mittleren Zählrate einer Probe mit unbekannter Insulinkonzentration die unmittelbare Bestimmung des Wertes in µU/ml auf der Abszisse der Eichkurve.

KRANKENGUT

Normalkollektiv

Die vergleichende Untersuchung des Enzym-Immun-Assay-Insulin und des Radio-Immuno-Assay-Insulin wurde mit insgesamt 29 Versuchspersonen durchgeführt. Es handelt sich hier um Ärzte, Krankenschwestern und Pfleger sowie um Krankenpflegeschülerinnen und -schüler der hiesigen Klinik, außerdem um Familienangehörige der Vorgenannten. Bei allen Probanden konnte durch anamnestische, gezielte Fragestellung eine familiäre Diabetesbelastung oder das Vorliegen schwerer organischer Erkrankungen, insbesondere auch Stoffwechselerkrankungen ausgeschlossen werden.

Zahl, Alter, Körpergröße, Körpergewicht, Geschlecht

Das Normalkollektiv setzt sich aus insgesamt 29 Personen zusammen, 13 männlichen Versuchspersonen und 16 weiblichen. Das Durchschnittsalter betrug 31,6 Jahre zwischen 20 und 64 Jahren. Körpergewicht und Körpergröße lagen im Schnitt bei 67,7 kg und 171,7 cm. Das Gewicht der Normalpersonen schwankte unwesentlich um das nach der modifizierten BROCA-Formel aufgestellte Normalgewicht (männlich: Normalgewicht = Körpergröße - 100, weiblich: Normalgewicht = Körpergröße - 100 - 10%). Einzelheiten sind in der Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1

Nichdiabetische Probanden mit 'normaler' reaktiver Insulinämie (n = 29)

Fall	Größe/cm	Gewicht/kg	Alter/J	Geschlecht/m/w
1	175	70	32	m
2	172	69	30	m
3	186	62	33	m
4	162	54	29	w
5	179	70	32	m
6	168	64	41	w
7	168	60	20	w
8	160	78	22	w
9	166	62	21	w
10	181	74	23	m
11	182	74	23	m
12	168	58	21	w
13	173	62,5	43	m
14	162	66	36	w
15	174	66	33	m
16	165	63	28	w
17	183	83	39	m
18	173	67	37	w
19	172	80	64	m
20	163	55	28	w
21	158	47	32	w
22	185	80	25	m
23	176	75	21	w
24	176	91	58	w
25	175	60	22	w
26	161	63	20	w
27	176	78	32	m
28	163	57	34	w
29	176	73,5	38	m
$\bar{x}$	171,7	67,7	31,6	
$\pm$ s	7,9	9,9	10,6	
$\pm$ s $\bar{x}$	1,47	1,84	1,97	

Chronische Pankreatitis

Insgesamt wurden 16 Patienten untersucht, die in Tabelle 2 entsprechend Größe, Gewicht, Alter und Geschlecht aufgelistet sind. Im einzelnen handelt es sich um 11 männliche und 5 weibliche Patienten. Das Durchschnittsalter lag bei 47,5 Jahren, das Durchschnittskörpergewicht bei 66,6 kg und die durchschnittliche Körpergröße bei 168,2 cm. Bei 13 Patienten fand sich eine chronisch-rezidivierende bzw. chronisch-progrediente Pankreatitis ohne vorausgegangene Operation an der Bauchspeicheldrüse, während bei 3 Patienten eine Pankreasteilresektion wegen Pankreaspseudocysten oder haemorrhagischer Schübe vorausgegangen war. Die Diagnosesicherung erfolgte durch die Gesamtauswertung folgender Untersuchungsverfahren:

1. Abdomenübersicht unter der Frage Pankreaskalk.
2. Endoskopisch retrograde Pankreaticographie (ERP) unter der Frage nach Veränderung des Pankreasganges unterschiedlichen Schweregrades (LÖFFLER 1974).
3. Sonographie.
4. Exkretorische Funktionstests darunter Pankreolauryltest, Stuhlgewichtsvermehrung, Gesamt-Lipid-Ausscheidung im Stuhl sowie Chymotrypsin-Ausscheidung im Stuhl über 24 Stunden.

Die Einzelheiten der hier gefundenen Daten sind aus Tabelle 2a klar ersichtlich. In allen Fällen zeigten sich Pankreasgangveränderungen mindestens des Schweregrades II nach LÖFFLER. In 3 Fällen war radiologisch bereits Kalk nachweisbar. In 9 Fällen wurde sonographisch die Verdachtsdiagnose einer chronischen Pankreatitis gestellt. Der Pankreolauryltest war bei 4 von 11 Patienten pathologisch. Die Stuhlge-

wichte bei 6 der 16 erhöht. Die Gesamt-Lipide im 24-Stunden-Stuhl bei 4 von 14 Patienten vermehrt und die Chymotrypsin-Ausscheidung bei 4 von 14 Patienten vermindert. Eine pathologische orale Glukosetoleranz fand sich bei 7 der 16 Patienten.

Tabelle 2

Patienten mit chronischer Pankreatitis bzw. Pankreasteilresektion (n = 16)

Fall	Größe/cm	Gewicht/kg	Alter/J	Geschlecht m/w
30	170	52	66	m
31	160	53,3	64	w
32	174	99,1	40	m
33	172	66,5	62	m
34	160	64,2	41	w
35	174	68,8	45	m
36	170	76	43	w
37	166	60,5	41	m
38	164	54	24	m
39	164	65,8	39	m
40	179	72,5	34	m
41	171	72,8	51	m
42	174	70,9	40	m
43	163	65,7	48	w
44	158	45,4	75	w
45	172	78,7	47	m
$\bar{x}$	168,2	66,6	47,5	
$\pm$ s	6,1	12,7	13,2	
$\pm$ s $\bar{x}$	1,53	3,18	3,3	

Tabelle 2a

Fall Nr.	Alter	Rel.Gew.	OGTT	Radiol. Kalk	Gangver. ERCP+	Zust. n. Resektion	Pankreol. Test	Sono-graphie	Gesamt-Lipide vermehrt	Chymo-trypsin vermind.	Stuhl-gewicht erhöht
30	66	74%	–	+	+	+	+	+	+	+	+
31	54	99%	–	–	+	–	Ø	–	–	–	–
32	40	134%	+	–	+	+	+	+	+	+	+
33	62	92%	–	–	+	–	Ø	–	–	–	–
34	41	119%	+	–	+	–	–	–	–	+	+
35	45	93%	+	+	+	+	+	+	+	–	–
36	43	121%	–	–	+	–	–	–	–	–	–
37	41	92%	+	–	+	–	–	+	–	–	–
38	24	84%	–	–	+	–	–	+	Ø	Ø	–
39	39	103%	–	+	+	–	Ø	+	+	+	+
40	34	92%	–	–	+	–	–	+	–	–	–
41	51	103%	–	–	+	–	–	+	–	–	–
42	40	96%	+	–	+	–	–	+	–	–	+
43	48	116%	–	–	+	–	Ø	–	–	–	–
44	75	87%	+	–	+	–	Ø	–	–	–	+
45	47	109%	+	–	+	–	+	–	Ø	Ø	–

\+ = pathologisch

Ø = nicht durchgeführt

– = nicht pathologisch

+ mindestens Schweregrad II nach LÖFFLER, 1974

Diabetiker

In diese Gruppe wurden Patienten aufgenommen, die wegen einer schlecht eingestellten oder entgleisten Stoffwechsellage zur stationären Aufnahme kamen und die bis zur Klinikaufnahme entweder nur mit Diät oder mit Sulfonylharnstoffen und Diät eingestellt waren.

Insgesamt handelt es sich um 22 Patienten mit einem Durchschnittsalter von 60,9 Jahren, einem durchschnittlichen Körpergewicht von 71,6 kg und einer durchschnittlichen Körpergröße von 166 cm. Es wurden 7 Männer und 15 Frauen untersucht. Das Durchschnittsgewicht betrug bei den Männern 81,7 kg und bei den Frauen 66,9 kg. Einzelheiten siehe Tabelle 3.

Bei 8 Patienten konnte parallel zur Insulinbestimmung mittels Enzym-Immun-Assay die radioimmunologische Insulinbestimmung durchgeführt werden, so daß auch ein Vergleich der Methodik unter pathologischen Bedingungen möglich wurde.

Tabelle 3

Patienten mit diabetischer Stoffwechsellage (n = 22)

Fall	Größe cm	Gewicht kg	Rel.Gew.n. Broca (%)	Alter J	Geschlecht m/w
46	167	81	134	33	w
47	166	85,8	144	72	w
48	166	76,3	128	70	w
49	163	79,5	140	78	w
50	164	73,1	126	76	w
51	178	77,4	99	53	m
52	153	56,5	118	59	w
53	162	55,4	99	68	w
54	172	74,8	103	46	m
55	165	50,5	86	32	w
56	167	77,8	116	76	m
57	165	62,8	107	20	w
58	180	88,8	111	54	m
59	174	78,5	106	52	m
60	177	100	129	48	m
61	158	53,1	101	81	w
62	167	77,7	128	59	w
63	168	74,4	109	76	m
64	162	74,5	133	76	w
65	151	58,1	126	71	w
66	159	60,8	114	70	w
67	162	58,1	104	69	w
$\bar{x}$	166	72	117	61	
$\pm$ s	7	13	15	17	
$\pm$ s $\bar{x}$	2	3	3	4	

Auswertung und statistische Verfahren, Parameter

Die gewonnenen Daten wurden nach folgenden statistischen Methoden ausgewertet:

1. Mittelwert

   Die Mittelwertbestimmung erfolgte als Berechnung des arithmetischen Mittels nach der Formel

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

2. Standardabweichung

   Die Standardabweichung wurde nach der Formel

$$s = \frac{\sum(x^2) - \bar{x}\sum(x)}{n-1}$$

3. Signifikanzberechnung

   Die Irrtumswahrscheinlichkeit p beim Vergleich zweier Kollektive wurde nach der Student'schen t-Verteilungskurve für Daten unverbundener Stichproben berechnet.

   Irrtumswahrscheinlichkeit und statistische Sicherheit ergänzen sich zu 1 bzw. 100%.

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{s_1^2(n_1-1) + s_2^2(n_2-1)}{n_1+n_2-2}} \cdot \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Die Differenz der Mittelwerte zweier Kollektive gilt als signifikant wenn p gleich oder kleiner als 0,05 ist, d. h. die Wahrscheinlichkeit, daß die Differenz auf Zufall beruht, beträgt maximal 5%.

$p \leq 0{,}05$ Unterschied kann als statistisch signifikant gelten.

Für den Vergleich von Daten aus verbundenen Stichproben wurde der entsprechende t-Wert nach folgenden Verfahren errechnet:

1) $\bar{d} = \frac{d_1 + d_2 + d_3 \ldots\ldots\ldots\ldots + d_n}{n}$

2) $s_d^2 = \frac{(d_1-\bar{d})^2 + (d_2-\bar{d})^2 + (d_3-\bar{d})^2 \ldots + (d_n-\bar{d})^2}{n-1}$

3) $t = \frac{\bar{d}}{\sqrt{s_d^2}} \cdot \sqrt{n}$

Unterschied auf 5%-Niveau signifikant, wenn
(t) > ^{t} 0,975, n-1 (zweiseitiger Test).

An Daten wurden ermittelt:
Die Blutglukosekonzentrationen unter oraler Glukosebelastung im Nüchternzustand sowie nach 30, 60 und 120 Minuten.

Parallel dazu wurden die Serum-Insulin-Konzentrationen mittels Enzym-Immun-Assay und teilweise durch Radio-Immuno-Assay nüchtern und nach 30, 60 und 120 Minuten bestimmt.

C. Ergebnisse

Nicht-diabetisches Normalkollektiv

Bei der Durchführung der Glukosetoleranztestung wurden die Serumglukosebestimmungen nach der Hexokinase-Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Reaktion durchgeführt. Die Variation in der Serie betrug 5,84% (siehe Tabelle 4).

Das Normalkollektiv setzt sich aus 29 Personen (Tabelle 1) zusammen. Dabei handelt es sich um 13 männliche und 16 weibliche Freiwillige. Das Durchschnittsalter betrug 31,6 $\pm$ 10,6 Jahre. Die mittlere Körpergröße betrug 171,7 cm $\pm$ 7,9 und das Körpergewicht lag bei 67,7 kg $\pm$ 9,9. Die Gewichte der Normalpersonen schwankten unwesentlich um das nach der modifizierten BROCA-Formel aufgestellte Normalgewicht. In Abbildung 2 ist die Glukosetoleranz dieser Patienten graphisch vor sowie 30, 60 und 120 Minuten nach Belastung mit 100 g Glukose wiedergegeben. Der Nüchternglukosewert lag bei 82 $\pm$ 14 mg/dl, der Blutglukosewert nach 30 Minuten bei 113 $\pm$ 26 mg/dl, der Blutglukosewert nach 60 Minuten bei 94 $\pm$ 34 mg/dl und nach 120 Minuten bei 79 $\pm$ 20 mg/dl. Die Einzelwerte sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

Enzym-Immun-Assay-Insulin

Präzision in der Serie

Zur Überprüfung der Zuverlässigkeit der von uns verwendeten Methode (Enzymun^{R}-Test der Firma Boehringer Mannheim) wurde die Präzision in der Serie bestimmt und zwar 1. an einem Kontrollserum bekannter niedriger, 2. an einem Kontrollserum bekannter höherer Insulinkonzentration, 3. an einer Serumprobe niedriger

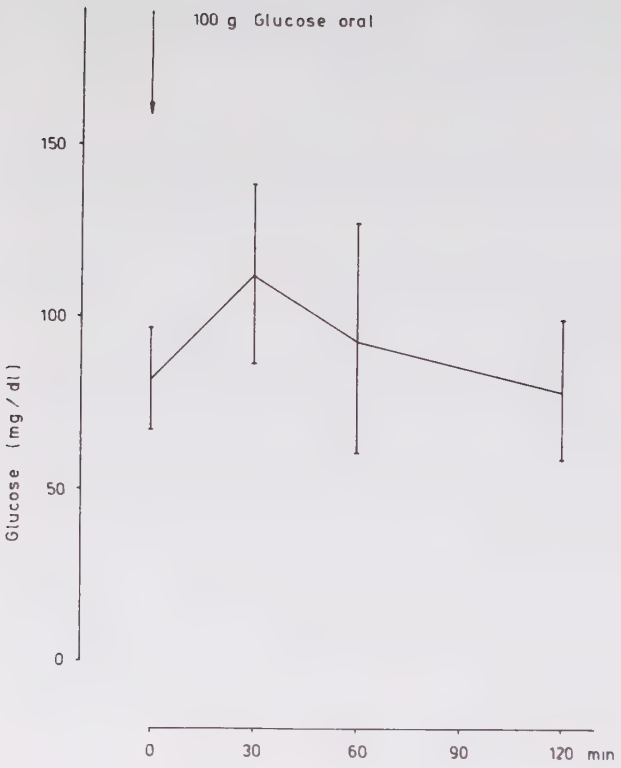


Abb. 2

Normalkollektiv (n = 29)

Blutglukosekonzentrationen nach oraler Glukose-belastung

$\bar{x} \pm s$

Tabelle 4

Präzisionskontrolle der Blutglukosebestimmung
(Präzision in der Serie, n = 20)

Sollwert = 92 mg/100 ml

Analysenwert (mg/100 ml)	Prozentuale Abweichung vom Sollwert
101	9,78
99	7,61
83	- 9,78
91	- 1,09
92	0
91	- 1,09
92	0
94	2,17
92	0
90	- 2,17
91	- 1,09
98	6,52
105	14,13
100	8,70
91	- 1,09
95	3,26
95	3,26
102	10,87
100	8,70
87	- 5,43
$\bar{x}$ 94,45	2,663
$\pm$ s 5,52	
VK 5,84%	

Tabelle 5

Blutglukosekonzentrationen und reaktive Insulinämie nach oraler Glukosebelastung bei nichtdiabetischen Probanden (n = 29)

	Glucose mg/dl				Insulin-EIA µU/ml				Insulin-RIA µU/ml				Rel.Gew. n. BROCA
Nr.	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'	%
1	-	104	80	78	19,9	56,3	42,6	24,0	4,0	50,0	25,7	11,2	93,3
2	-	85	79	73	22,4	24,9	30,6	28,0	7,5	12,5	18,1	24,0	95,8
3	-	139	90	91	17,4	44,2	43,8	33,9	6,7	28,1	36,0	28,1	72,1
4	80	131	67	80	21,5	28,9	30,6	40,2	4,5	11,9	19,8	22,0	96,8
5	86	124	77	49	24,5	58,7	42,1	22,2	7,5	56,0	26,0	7,1	88,6
6	87	56	66	62	22,4	26,6	31,9	37,8	8,9	26,8	6,0	14,7	104,6
7	71	77	50	57	31,5	172,1	45,6	24,9	6,0	34,0	23,0	14,7	98,0
8	64	93	63	94	21,8	142,6	47,4	62,5	6,7	64,0	23,0	34,0	144,4
9	79	136	91	85	22,3	102,9	73,7	45,3	10,0	118,0	94,0	32,0	104,4
10	80	120	90	67	24,0	34,8	40,4	25,5	5,0	25,7	34,0	6,4	91,4
11	86	153	106	80	21,2	89,7	138,8	35,3	3,8	48,0	6,0	20,1	90,2
12	83	94	71	78	19,4	36,4	23,0	83,4	11,2	42,0	6,0	14,0	94,8
13	79	94	69	84	22,4	54,3	38,8	21,2	7,8	33,0	26,0	12,8	85,6
14	72	93	70	62	20,4	24,4	31,6	27,8	7,4	39,5	15,0	35,0	118,3
15	63	92	78	54	16,4	44,1	45,5	28,9	5,4	67,0	82,0	16,0	89,2
16	71	90	53	50	23,6	59,9	36,5	18,4	11,3	20,2	50,0	14,2	107,7

Fortsetzung Tabelle 5

	Glucose mg/dl				Insulin-EIA µU/ml				Insulin-RIA µU/ml				Rel.Gew. n. BROCA
Nr.	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'	%
17	69	133	109	62	16,4	48,3	38,8	37,4	6,5	87,0	118,0	23,0	100,0
18	68	109	88	81	34,4	56,4	44,7	24,9	6,1	15,0	50,0	20,2	102,0
19	84	158	203	93	22,3	189,5	73,7	37,8	10,0	33,0	98,0	87,0	111,1
20	76	125	126	97	24,5	67,4	48,8	25,5	7,4	87,0	125,0	87,0	97,0
21	79	125	96	83	19,7	38,7	23,2	25,5	7,4	103,0	82,0	19,0	90,0
22	71	72	68	55	22,2	24,9	33,8	28,2	7,8	19,0	15,0	5,4	94,1
23	116	135	123	101	13,2	238,5	334,6	182,5	14,4	81,6	61,4	34,8	108,1
24	88	132	157	82	14,2	65,6	145,6	119,0	5,2	27,6	148,3	112,7	131,1
25	113	97	104	107	3,4	95,3	103,1	122,1	95,8	108,6	64,2	51,9	88,9
26	109	114	110	101	30,1	170,0	229,0	189,0	28,3	320,0	60,5	53,3	114,8
27	95	157	153	141	67,8	114,3	223,6	250,0	52,9	104,7	320,0	293,3	102,6
28	94	120	91	89	17,0	99,9	112,5	54,7	4,8	103,2	98,4	29,5	102,3
29	70	121	97	68	19,3	166,3	174,9	112,2	32,1	114,7	253,8	106,6	96,7
$\bar{x}$	82,0	113,1	94,0	79,4	22,6	81,9	80,3	61,0	13,5	64,9	68,5	42,4	100,5
$\pm$ s	14,1	25,9	33,5	20,1	10,4	58,0	75,8	59,1	18,9	60,0	72,6	56,4	14,1
$\pm$ s $\bar{x}$	2,62	4,81	6,22	3,73	1,93	10,77	14,07	10,13	3,51	11,14	13,47	10,48	2,62

Insulinkonzentration sowie 4. an einer Serumprobe mit höherer Insulinkonzentration. Die Serumprobe 3 war der Nüchtern- und die Serumprobe 4 der 30-Minuten-Wert des gleichen Patienten unter Glukosestimulation. Es erfolgten zur Bestimmung des Variationskoeffizienten 10 Doppelbestimmungen. Aus den mittels Doppelbestimmungen erfaßten Meßwerten wurde einmal die Präzision der Extinktionswerte errechnet sowie der Variationskoeffizient aus den ermittelten Absolutwerten (Tabelle 6 a - d).

Zu 1, Kontrollserum bekannter niedriger Insulinkonzentration

Für die Standardserumprobe mit bekannter Insulinkonzentration von 30 µU/ml fand sich ein Mittelwert der Extinktion von 0,648 ± 0,017. Der Variationskoeffizient wurde mit 2,6% errechnet. Die daraus ermittelte mittlere Insulinkonzentration lag bei 33,5 ± 3,3 µU/ml und der Variationskoeffizient betrug hier 9,9% (Tabelle 6 a).

Zu 2, Kontrollserum bekannter höherer Insulinkonzentration

Bei einer Standardserumprobe bekannter Konzentration von 55 µU/ml ergab sich ein Extinktionsmittelwert von 0,601 ± 0,014. Der Variationskoeffizient betrug 2,4%. Die mittlere Insulinkonzentration wurde mit 45,7 ± 5,3 µU/ml bestimmt. Hier lag der Variationskoeffizient bei 11,5% (Tabelle 6 b).

Zu 3, Nüchternserum eines Patienten

Im Nüchternserum eines Patienten wurde bei 10-fach-Bestimmung eine mittlere Extinktion von 0,817 ± 0,025 gefunden. Der Variationskoeffizient betrug 3,1%. Die mittlere Insulinkonzentration lag bei 25,555 ± 0,787 µU/ml. Der Variationskoeffizient betrug 3,1% (Tabelle 6 c).

Zu 4, Serum eines Patienten 30 Minuten nach 100 g Glukose oral

Im 30-Minuten-Serum des gleichen Patienten fand sich bei 10-fach-Bestimmung ein Extinktionsmittelwert von 0,563 ± 0,016 mit einem Variationskoeffizienten von 2,8%. Die Bestimmung der Insulinkonzentration ergab einen Mittelwert von 61.610 ± 3,881 µU/ml. Der Variationskoeffizient betrug hier 6.3% (Tabelle 6 d).

Unter Berücksichtigung der in der Literatur angegebenen Zahlen für den Variationskoeffizienten bei klinisch-chemischen Meßmethoden kann die Präzision der angewendeten Methode als akzeptabel angenommen werden.

Bemerkung:

Die oben aufgeführten Werte der Präzisionskontrolle wurden unmittelbar nach Aufbau der Methode nicht erreicht. Zu Beginn war die Reproduzierbarkeit gering. Die anfangs ermittelten Variationskoeffizienten von ca. 30% ließen die Methode nicht anwendbar erscheinen. Im weiteren Aufbau der Methode konnte die oben genannte Präzision im wesentlichen durch zwei Änderungen verbessert werden:

1. Durch Verwendung von sterilem Aqua dest. In den herkömmlichen Aqua-dest-Zubereitungen konnte eine bakterielle Kontamination nicht ausgeschlossen werden. Ein sich daraus möglicherweise ergebender enzymatischer Abbau durch bakterieneigene Stoffwechselprodukte und Fermente kann nicht abgeschätzt werden.
2. Die zweite wesentliche Änderung bestand darin, daß ein strenger Zeittakt von der Inkubation der Seren in die Reaktionsgefäße an bis zur Photometrie eingehalten wurde.
   Siehe auch Prinzip und Durchführung der Methode.

Tabelle 6 a

Präzisionsbestimmung des Enzym-Immun-Assay-Insulins
(Präzision in der Serie, n = 10)
Standardkonzentration 30 µU/ml

Extinktion	Analysenwert (µU/ml)
0.645	33.730
0.659	31.200
0.621	39.300
0.640	34.800
0.637	35.500
0.656	31.600
0.666	30.100
0.674	29.000
0.651	32.500
0.627	37.700
$\bar{x}$ 0.648	33.540
$\pm$ s 0.017	3.312
VK 2.602%	9.874%

Tabelle 6 b

Präzisionsbestimmung des Enzym-Immun-Assay-Insulins
(Präzision in der Serie, n = 10)
Standardkonzentration 55 µU/ml

Extinktion	Analysenwert (µU/ml)
0.604	44.500
0.602	45.100
0.609	42.800
0.575	55.600
0.576	55.000
0.601	45.400
0.606	43.900
0.616	40.700
0.610	42.600
0.613	41.700
$\bar{x}$ 0.601	45.730
$\pm$ s 0.014	5.256
VK 2.358%	11.494%

Tabelle 6 c

Präzisionsbestimmung des Enzym-Immun-Assay-Insulins
(Präzision in der Serie, n = 10)
Patientenserum nüchtern

Extinktion	Analysenwert (µU/ml)
0.796	26.200
0.794	26.300
0.836	25.000
0.811	25.700
0.847	24.600
0.855	24.400
0.845	24.700
0.800	26.100
0.790	26.400
0.799	26.100
$\bar{x}$ 0.817	25.555
$\pm$ s 0.025	0.787
VK 3.116%	3.081%

Tabelle 6 d

Präzisionsbestimmung des Enzym-Immun-Assay-Insulins
(Präzision in der Serie, n = 10)
Patientenserum nach 30 Minuten

Extinktion	Analysenwert (µU/ml)
0.568	59.100
0.580	53.600
0.554	66.400
0.562	61.900
0.558	63.800
0.562	61.800
0.569	58.500
0.553	66.800
0.562	61.800
0.561	62.400
$\bar{x}$ 0.563	61.610
$\pm$ s 0.008	3.881
VK 1.407%	6.300%

Die Untersuchungen wurden mit dem Enzym-Immun-Assay der Charge (105 11 38) durchgeführt. Es ist hervorzuheben, daß von der Herstellerfirma selbst verschiedene Chargen nicht ausgeliefert werden bzw. zurückgezogen wurden, weil die Beschickung der Teströhrchen mit dem Antikörper offensichtlich Schwierigkeiten machte.

Radio-Immuno-Assay-Insulin

Präzision in der Serie und Richtigkeit

Die Präzisionsbestimmung in der Serie des Radio-Immuno-Assay-Insulins erfolgte einmal anhand eines Kontrollserums sowie an einer Serumprobe unbekannter Insulinkonzentration 30 Minuten nach oraler Glukosestimulation. Es wurden insgesamt 11 (Kontrollserum) bzw. 12 Doppelbestimmungen (Patientenserum) durchgeführt, wobei die Ergebnisse der Doppelbestimmungen gemittelt und aus der zuvor erstellten Eichkurve abgelesen wurden.

Die Überprüfung der Richtigkeit anhand eines vorgegebenen Kontrollserums zeigte bei insgesamt 11 Doppelbestimmungen, daß der bestimmte Analysenwert (47,7 $\pm$ 2,2 µU/ml) sich mit befriedigender Präzision in den geforderten Sollbereich (38 - 52 µU/ml) einordnen läßt. Die Variationskoeffizienten der Zählraten (Meßgröße) bzw. des Analysenwertes wurden mit 2,6% bzw. 4,7% bestimmt (Tabelle 7 a).

Hierbei zeigt die radioimmunologische Analyse mit einem Variationskoeffizienten von 5,8% (der absoluten Meßwerte) bzw. 2,07% (der im Scintillationszähler gemessenen Counts) eine befriedigende Präzision. Die mittlere Insulinskonzentration wurde mit 41 $\pm$ 2,4 µU/ml bestimmt (Tabelle 7 b).

Tabelle 7 a

Präzisionsbestimmung des Radio-Immuno-Assay-Insulins
(Präzision in der Serie, n = 11)
Kontrollserum
(Sollbereich 38 - 52 µU/ml)

Counts/min	Analysenwert (µU/ml)
2694	43
2558	48
2460	51
2449	51
2582	48
2561	48
2594	47
2593	47
2611	46
2609	46
2523	50
$\bar{x}$ 2566	47,7
$\pm$ s 66	2,2
VK 2,6%	4,7%

Tabelle 7 b

Präzisionsbestimmung des Radio-Immuno-Assay-Insulins
(Präzision in der Serie, n = 12)
Patientenserum nach 30 Minuten

Counts/min	Analysenwert (µU/ml)
2732	42
2788	40
2823	38
2693	44
2784	40
2774	40
2664	44
2799	40
2836	38
2691	44
2818	38
2697	44
$\bar{x}$ 2758	41
$\pm$ s 57	2,4
VK 2,07%	5,8%

Reaktive Insulinämiebestimmung mit dem Enzym-Immun-Assay

In Abbildung 3 ist das Verhalten der Serumglukose nach oraler Glukosetoleranz sowie das Verhalten der Insulinwerte im Nüchternzustand (Zeitpunkt 0) sowie 30, 60 und 120 Minuten nach der Glukosebelastung mit 100 g Glukose wiedergegeben.

Im einzelnen lagen die durch den Enzym-Immun-Assay ermittelten Mittelwerte im Verlauf der Glukosetoleranz bei:

nüchtern	22,6 ± 10,4 µU/ml
nach 30 Minuten	81,9 ± 58,0 µU/ml
nach 60 Minuten	80,3 ± 75,8 µU/ml
nach 120 Minuten	61,0 ± 59,1 µU/ml

(Einzelwerte siehe Tabelle 5)

Reaktive Insulinämie nach oraler Glukosebelastung im Radio-Immuno-Assay

Ebenfalls in Abbildung 3 ist der Verlauf der Blutglukose sowie des im Radio-Immun-Assay ermittelten Seruminsulinwertes wiedergegeben.
Es fand sich ein Seruminsulinwert von

nüchtern	13,5 ± 18,9 µU/ml
nach 30 Minuten	64,8 ± 60,0 µU/ml
nach 60 Minuten	68,5 ± 72,6 µU/ml
nach 120 Minuten	42,4 ± 56,4 µU/ml

(Einzelwerte siehe Tabelle 5)

Vergleich der mit dem Radio-Immun-Assay und Enzym-Immun-Assay ermittelten reaktiven Insulinämie

Die durch den Radio-Immuno-Assay ermittelte reaktive Insulinämie nach oraler Glukosebelastung ist der reaktiven Insulinämie, die mit dem Enzym-Immun-Assay ermittelt wurde, in Abbildung 3 gegenübergestellt. Am auffälligsten ist die Diskrepanz der Nüchternwerte. (Gegenüberstellung in Tabelle 8)

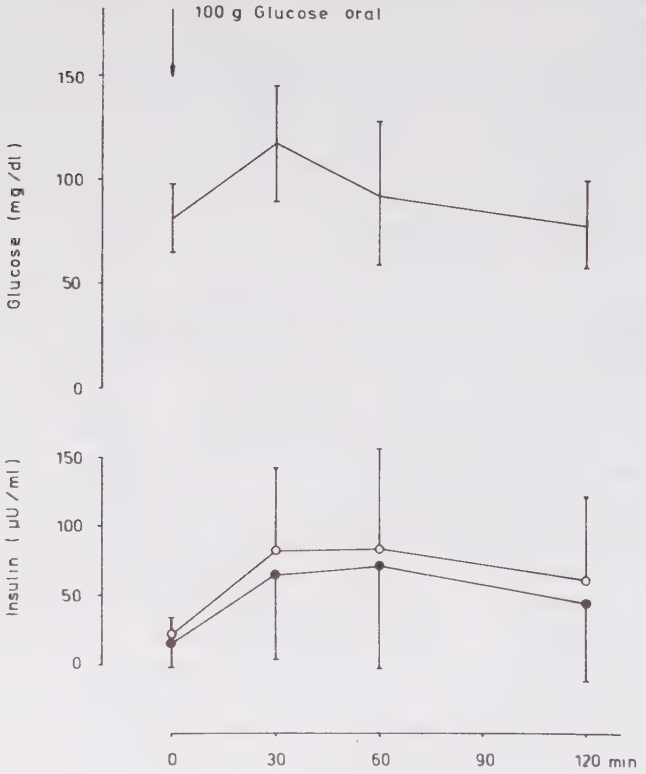


Abb. 3
Normalkollektiv (n = 29)
Blutglukosekonzentrationen und reaktive Insulinämie im Enzym-Immun-Assay (o ——— o) und im Radio-Immuno-Assay (● ——— ●)
$\bar{x} \pm s$

Der Mittelwert der Nüchternwerte lag in der Bestimmung mit dem Radio-Immuno-Assay bei 13,5 verglichen mit 22,6 µU/ml, die mit dem Enzym-Immun-Assay bestimmt wurden. Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant (2 p $\geq$ 0,025). Im übrigen Verlauf der reaktiven Insulinämie lagen die Mittelwerte des Radio-Immuno-Assays unter den Mittelwerten des Enzym-Immun-Assays. Ein signifikanter Unterschied bestand beim 120-Minuten-Wert.
Die 2 p-Werte lagen

für den 30-Minuten-Wert	$>$0,10
für den 60-Minuten-Wert	$>$0,30
für den 120-Minuten-Wert	$<$0,025

(Unterschied auf 5%-Niveau signifikant).

Die Insulinbasalwerte lagen somit im Enzym-Immun-Assay bei 22,6 $\pm$ 10,4 µU/ml in einem Bereich von 3,4 bis 67,8 µU/ml und damit fast um das doppelte höher als die Basalwerte des Radio-Immuno-Assays, die bei 13,5 $\pm$ 18,9 µU/ml in einem Bereich von 3,8 bis 52,9 µU/ml gemessen wurden.

Die Maximalwerte unter Glukosestimulation lagen mit 81,9 $\pm$ 58,0 µU/ml im Enzym-Immun-Assay um das 3,5-fache höher mit einem Bereich zwischen 24,4 bis 238,5 µU/ml. Im Radio-Immuno-Assay lagen die Maximalwerte mit 68,5 $\pm$ 72,6 µU/ml und einem Bereich von 11,9 bis 320 µU/ml um das 5,5-fache höher als die Insulinbasalwerte.

Die Maximalwerte wurden im Mittel nach 30 Minuten erreicht, während nach 60 Minuten bereits wieder ein Abfall nachweisbar war. Im Einzelnen wurden in 14 Fällen dieses Maximum im Enzym-Immun-Assay bereits nach 30 Minuten, in allen übrigen Fällen nach 60 Minuten erreicht. Im Radio-Immuno-Assay fand sich ein gleichartiges Verhalten, wobei hier in 16 Fällen das Maximum bereits nach 30 Minuten und in allen übrigen Fällen nach 60 Minuten erreicht war (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8

Normalpersonen — Insulinkonzentrationen im Serum (µU/ml)
($\bar{x} \pm s \pm s\bar{x}$)

Zeit	Enzym-Immun-Assay	Radio-Immuno-Assay	Signifikanzgrad
0'	22,6 ± 10,4 ± 1,9	13,5 ± 18,9 ± 3,5	$2p > 0{,}025$ (n.s.)
30'	81,9 ± 58,0 ± 10,8	64,9 ± 60,0 ± 11,1	$2p > 0{,}15$ (n.s.)
60'	80,3 ± 75,8 ± 14,1	68,5 ± 72,6 ± 13,5	$2p > 0{,}30$ (n.s.)
120'	61,0 ± 59,1 ± 10,1	42,4 ± 56,4 ± 10,5	$2p < 0{,}025$

Ergebnisse der logarithmisch berechneten reaktiven Insulinämie des Normalkollektivs

Die Annahme, daß die ermittelten Insulinwerte des Normalkollektivs wie viele andere biologische Daten einer logarithmischen Verteilung folgen, wurde durch den Kolmogoroff-Test gestützt. Ergänzend wurden die erhobenen Meßwerte deshalb aus der numerischen Berechnung als dekadische Logarithmen notiert und statistisch untersucht. Dabei zeigt sich, daß die mit dem Enzym-Immun-Assay ermittelten Insulinwerte wie auch beim Vergleich der numerischen Werte höher liegen als die durch den Radio-Immuno-Assay bestimmten.

Die mittleren Insulinkonzentrationen (logarithmisch ermittelte Mittelwerte) lagen im Enzym-Immun-Assay

nüchtern bei	20,65 µU/ml
nach 30 Minuten bei	64,57 µU/ml
nach 60 Minuten bei	59,29 µU/ml und
nach 120 Minuten bei	44,46 µU/ml.

Damit liegt auch bei Anwendung logarithmischer Berechnungsweise eine den numerisch ermittelten Werten entsprechende Insulinkinetik vor, die ihr Maximum nach 30 Minuten erreicht.

Im Radio-Immun-Assay wurden die Insulinkonzentrationen unter Anwendung des gleichen Berechnungsverfahrens

mit 9,02 µU/ml für den Nüchternzeitpunkt,
mit 47,75 µU/ml nach 30 Minuten,
mit 41,97 µU/ml nach 60 Minuten und
mit 26,49 µU/ml nach 120 Minuten ermittelt.

Der statistische Vergleich der beiden Bestimmungsmethoden zeigt für den Nüchtern- und den 120-Minuten-Wert hochsignifikante Unterschiede (2 p $<$ 0,001), nach 30 Minuten einen signifikanten Unterschied (2 p $<$ 0,025) und lediglich für den 60-Minuten-Wert keine statistisch nachweisbare Differenz.

Die Einzelwerte und Signifikanzgrade sind aus den Tabellen 9 a - d und aus der Abbildung 4 ersichtlich.

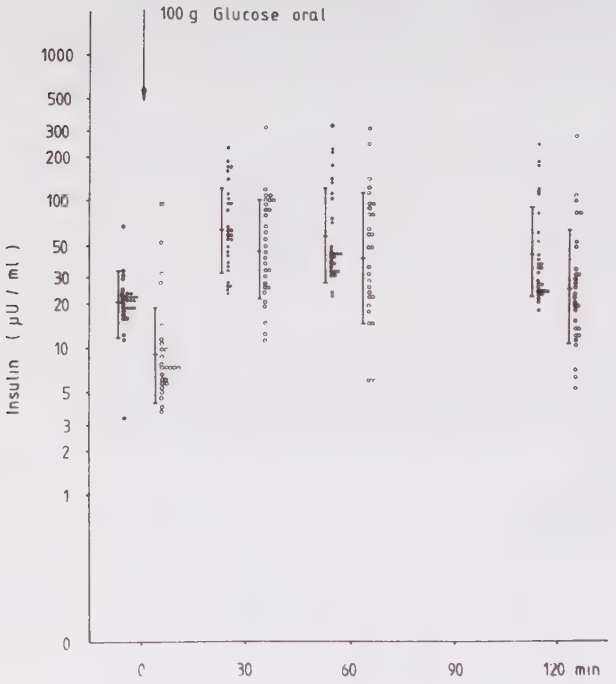


Abb. 4

Logarithmische Darstellung der reaktiven Insulinämie im Enzym-Immun-Assay (●) und im Radio-Immun-Assay (O). Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichung.

Tabelle 9 a

Logarithmen der Nüchterninsulinwerte des Normalkollektivs

	EIA	RIA
1	1,299	0,602
2	1,350	0,875
3	1,241	0,826
4	1,332	0,653
5	1,389	0,875
6	1,350	0,949
7	1,498	0,778
8	1,338	0,826
9	1,348	1,000
10	1,380	0,699
11	1,326	0,580
12	1,288	1,049
13	1,350	0,892
14	1,310	0,869
15	1,214	0,732
16	1,372	1,049
17	1,214	0,812
18	1,536	0,785
19	1,348	1,000
20	1,389	0,869
21	1,294	0,869
22	1,346	0,892
23	1,120	1,158
24	1,157	0,716
25	0,531	1,981
26	1,478	1,451
27	1,831	1,723
28	1,230	0,681
29	1,285	1,506
$\bar{x}$	1,315	0,955
$\pm$ s	0,200	0,328
$\bar{x}$ num.	20,65	9,02

$2\,p < 0{,}001$

Tabelle 9 b

Logarithmen der Insulinwerte des Normalkollektivs 30 Minuten nach oraler Glukosebelastung

	EIA	RIA
1	1,750	1,698
2	1,396	1,096
3	1,645	1,448
4	1,460	1,075
5	1,768	1,748
6	1,424	1,428
7	2,235	1,531
8	2,154	1,806
9	2,012	2,072
10	1,541	1,409
11	1,952	1,681
12	1,421	1,623
13	1,734	1,518
14	1,387	1,596
15	1,644	1,826
16	1,777	1,305
17	1,683	1,939
18	1,751	1,176
19	2,277	1,518
20	1,829	1,939
21	1,587	2,012
22	1,396	1,278
23	2,377	1,911
24	1,816	1,440
25	1,979	2,035
26	2,230	2,505
27	2,058	2,019
28	1,999	2,013
29	2,220	2,059
$\bar{x}$	1,810	1,679
$\pm$ s	0,300	0,341
$\bar{x}$ num.	64,57	47,75

$2\ p < 0{,}025$

Tabelle 9 c

Logarithmen der Insulinwerte des Normalkollektivs 60 Minuten nach oraler Glukosebelastung

	EIA	RIA
1	1,629	1,409
2	1,485	1,257
3	1,641	1,556
4	1,556	1,296
5	1,624	1,414
6	1,503	0,778
7	1,658	1,361
8	1,675	1,361
9	1,867	1,973
10	1,606	1,531
11	2,142	0,778
12	1,361	0,778
13	1,588	1,414
14	1,499	1,176
15	1,658	1,913
16	1,562	1,699
17	1,588	2,071
18	1,650	1,698
19	1,867	1,991
20	1,688	2,096
21	1,365	1,913
22	1,528	1,176
23	2,524	1,788
24	2,163	2,171
25	2,013	1,807
26	2,359	1,781
27	2,349	2,505
28	2,051	1,992
29	2,242	2,404
$\bar{x}$	1,773	1,623
$\pm$ s	0,318	0,456
$\bar{x}$ num.	59,29	41,97

$2\,p > 0{,}05$ (n.s.)

Tabelle 9 d

Logarithmen der Insulinwerte des Normalkollektivs
120 Minuten nach oraler Glukosebelastung

	EIA	RIA
1	1,380	1,049
2	1,447	1,380
3	1,530	1,448
4	1,604	1,342
5	1,346	0,851
6	1,577	1,167
7	1,396	1,167
8	1,795	1,531
9	1,656	1,505
10	1,406	0,806
11	1,547	1,303
12	1,921	1,146
13	1,326	1,107
14	1,444	1,544
15	1,460	1,204
16	1,264	1,152
17	1,572	1,361
18	1,396	1,305
19	1,577	1,939
20	1,406	1,939
21	1,406	1,278
22	1,450	0,732
23	2,261	1,541
24	2,075	2,051
25	2,086	1,715
26	2,276	1,726
27	2,397	2,467
28	1,737	1,469
29	2,050	2,028
$\bar{x}$	1,648	1,423
$\pm$ s	0,321	0,398
$\bar{x}$ num.	44,46	26,49

$2\ p < 0{,}001$

Korrelationsberechnung

Die Überprüfung der Korrelation der mit dem Enzym-Immun-Assay und dem Radio-Immuno-Assay ermittelten Insulinwerte unter Verwendung von insgesamt 94 Beobachtungspaaren ergab eine hochsignifikante Übereinstimmung der Nüchternwerte, der 30-Minuten-Werte, der 60-Minuten-Werte und auch der 120-Minuten-Werte. Die einzelnen Regressionsgeraden sind in Abbildung 5 zusammengestellt. Die Formel der Regressionsgeraden sowie die Korrelationskoeffizienten und der Signifikanzgrad ist ebenso wie die für die einzelnen Zeitpunkte vorliegenden Paar-Punkte aus der Tabelle 10 ersichtlich. Der Korrelationskoeffizient lag für die Nüchternkurve bei 0,723, für den 30-Minuten-Wert bei 0,796, für den 60-Minuten-Wert bei 0,875 und für den 120-Minuten-Wert bei 0,861.

Klinische Anwendung

Diabetiker

Bei 22 nicht-Insulin-bedürftigen, sulfonylharnstoffempfindlichen Diabetikern wurde unter oraler Glukosebelastung die reaktive Insulinämie bestimmt (Abbildung 6). Die Einzelheiten über Geschlecht, Lebensalter, Körpergröße und Körpergewicht sind aus der Tabelle 3 zu entnehmen. Im einzelnen handelt es sich um 22 Patienten, 7 Männer und 15 Frauen, eines Durchschnittsalters von 60,9 Jahren und eines durchschnittlichen Körpergewichtes von 71,6 kg bei einer durchschnittlichen Körpergröße von 165,7 cm.

Die Nüchternblutzuckerwerte betrugen im Mittel 150 $\pm$ 60 mg/dl, nach 30 Minuten 257 $\pm$ 82 mg/dl, nach 60 Minuten 322 $\pm$ 106 mg/dl und nach 120 Minuten 337 $\pm$ 151 mg/dl (Tabelle 11).

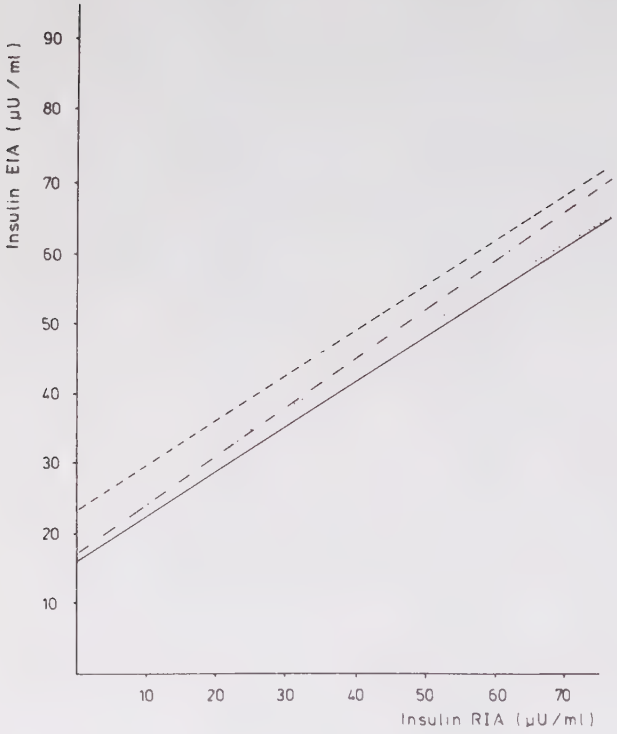


Abb. 5

Regressionsgeraden im Methodenvergleich des Enzym-Immun-Assay und Radio-Immuno-Assay innerhalb des Normalkollektivs nach 0 Minuten (———), 30 Minuten (- - - -), 60 Minuten (·····) und 120 Minuten (—·—·—·—).

Tabelle 10

Normalpersonen
Regressionsgeraden und Korrelationskoeffizienten der Teilbeobachtungseinheiten nach 0, 30, 60 und 120 Minuten im Methodenvergleich der Insulinbestimmung durch Enzym-Immun-Assay und Radio-Immuno-Assay.
R = Korrelationskoeffizient

nach 0 Minuten	$y = 0{,}682\ x + 16{,}07$	$n = 28$	$R = 0{,}723$	$p < 0{,}001$
nach 30 Minuten	$y = 0{,}639\ x + 23{,}19$	$n = 22$	$R = 0{,}796$	$p < 0{,}001$
nach 60 Minuten	$y = 0{,}724\ x + 20{,}18$	$n = 21$	$R = 0{,}875$	$p < 0{,}001$
nach 120 Minuten	$y = 0{,}753\ x + 17{,}02$	$n = 23$	$R = 0{,}861$	$p < 0{,}001$

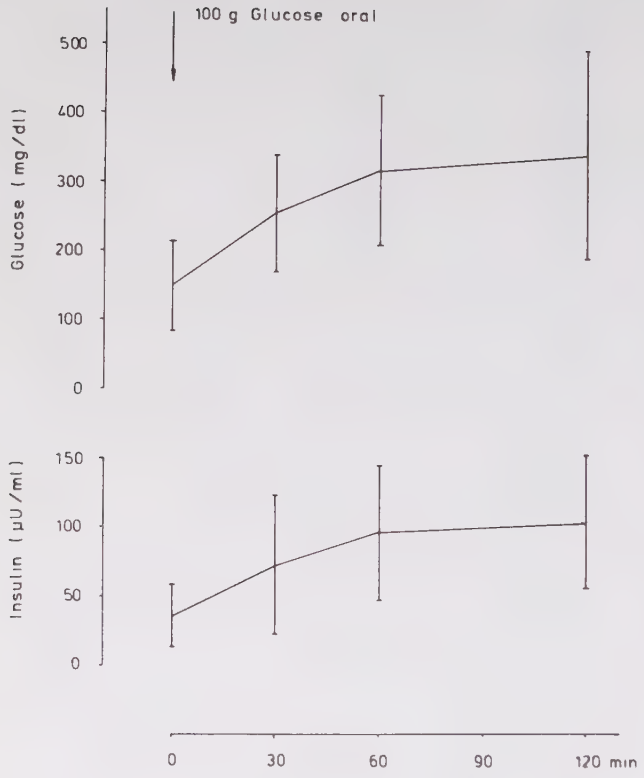


Abb. 6

Diabetiker (n - 22)

Blutglukosekonzentrationen und reaktive Insulinämie

$\bar{x} \pm s$

Tabelle 11

Blutglukose- sowie Insulinwerte (EIA) sowie Relativgewicht nach BROCA von 22 nicht-Insulin-pflichtigen Diabetikern

	Blutglukose				Insulin-EIA				Rel.Gew. n. BROCA
Nr.	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'	% Soll = 100%
46	105	210	213	173	43,0	160,0	198,0	210,0	134,3
47	161	298	377	428	58,8	144,1	108,2	152,5	144,4
48	189	297	377	454	74,4	48,7	73,1	118,7	128,5
49	148	231	236	357	77,6	41,1	50,5	56,5	140,2
50	138	240	364	318	33,8	39,5	80,9	113,7	126,9
51	145	227	305	361	22,3	76,6	105,2	122,7	99,2
52	87	159	211	217	0,3	31,7	53,3	136,6	118,4
53	131	331	383	261	10,3	25,3	73,9	118,3	99,3
54	70	160	174	53	43,2	154,2	206,6	85,2	103,9
55	144	206	199	168	25,6	79,1	112,0	71,8	86,3
56	177	269	325	351	39,8	36,0	41,4	39,5	116,1
57	42	123	189	238	29,2	75,6	104,2	112,4	107,4
58	133	195	261	255	30,5	41,9	72,4	66,4	111,0
59	113	201	236	232	16,8	26,6	70,0	91,3	106,1
60	103	186	215	133	32,1	151,1	179,6	205,2	129,9

Fortsetzung Tabelle 11 — Diabetiker — n = 22

Nr.	Blutglukose 0'	30'	60'	120'	Insulin-EIA 0'	30'	60'	120'	Rel.Gew. n. BROCA % Soll = 100%
61	192	337	410	440	25,7	34,3	60,3	61,6	101,7
62	159	294	372	383	39,2	72,3	69,8	90,4	128,9
63	96	171	319	326	--	27,8	46,7	76,8	109,4
64	250	414	499	533	59,2	133,0	123,0	73,5	133,5
65	205	366	436	557	9,0	47,1	79,1	115,1	126,6
66	194	375	531	574	33,0	146,0	91,0	163,4	114,5
67	310	359	446	611	0,7	8,1	9,5	15,2	104,1
$\bar{x}$	149,6	256,8	321,7	337,4	33,5	72,7	91,3	104,4	116,9
$\pm$ s	60,2	81,8	105,6	151,2	21,3	50,8	49,7	49,0	15,4
$\pm$ s $\bar{x}$	12,8	17,4	22,5	32,2	4,5	10,8	10,6	10,5	3,2

Die mittleren Insulinkonzentrationen, gemessen mit dem Enzym-Immun-Assay unter oraler Glukosestimulation ergaben:

nüchtern	33,5 ± 21,3 µU/ml,
nach 30 Minuten	72,7 ± 50,8 µU/ml,
nach 60 Minuten	91,3 ± 49,7 µU/ml,
nach 120 Minuten	104,4 ± 49,0 µU/ml.

(Einzelheiten siehe Tabelle 11)

Auffällig war, daß die Maximalwerte erst nach 120 Minuten erreicht wurden und zu diesem Zeitpunkt signifikant über den 120-Minuten-Werten des Normalkollektivs lagen ($p < 0{,}005$).

Dieses Patientenkollektiv wurde weiter unter Berücksichtigung des Relativgewichtes nach BROCA aufgeschlüsselt. In Anlehnung an die Untersuchungen von GRIES und Mitarbeiter (1976) und KRAUSE und Mitarbeiter (1977) sowie JAHNKE und Mitarbeiter (1976) haben wir eine Unterteilung der Patientengruppe zwischen Übergewichtigen mit einem Relativgewicht von mehr als 110% BROCA von solchen mit einem Relativgewicht nach BROCA unter 110% vorgenommen.

Im Vergleich der Ergebnisse dieser beiden Gruppen (< 110% n = 9, > 110% n = 13) zeigt sich folgendes:

In der Gruppe mit einem Relativgewicht bis 110% liegen die Insulinkonzentrationen unter Glukosestimulation

nüchtern bei	21,7 ± 12,8 µU/ml,
nach 30 Minuten bei	56,4 ± 45,2 µU/ml,
nach 60 Minuten bei	87,6 ± 55,2 µU/ml und
nach 120 Minuten bei	83,9 ± 33,5 µU/ml.

Das mittlere Relativgewicht nach BROCA liegt in dieser Gruppe bei 101,9 ± 6,8% (siehe Tabelle 12 a).

Tabelle 12 a

Verhalten der Blutglukose und des Serum-Insulins nach Glukosestimulation bei 9 nicht-Insulinpflichtigen Diabetikern eines Relativgewichtes nach BROCA < 110%

	Blutglukose				Insulin-EIA				Rel.Gew. n. BROCA
Nr.	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'	% Soll = 100%
51	145	227	305	361	22,3	76,6	105,2	122,7	99,2
53	131	331	383	261	10,3	25,3	73,9	118,3	99,3
54	70	160	174	53	43,2	154,2	206,6	85,2	103,9
55	144	206	199	168	25,6	79,1	112,0	71,8	86,3
57	42	123	189	238	29,2	75,6	104,2	112,4	107,4
59	113	201	236	232	16,8	26,6	70,0	91,3	106,1
61	192	337	410	440	25,7	34,3	60,3	61,6	101,7
63	96	171	319	326	--	27,8	46,7	76,8	109,4
67	310	359	446	611	0,7	8,1	9,5	15,2	104,1
$\bar{x}$	138,1	235,0	295,7	298,9	21,7	56,4	87,6	83,9	101,9
$\pm$ s	78,2	86,1	101,9	161,7	12,8	45,2	55,2	33,5	6,8
$\pm$ s $\bar{x}$	26,1	28,7	34,0	53,9	4,3	15,1	18,4	11,2	2,3

Die Gruppe der Patienten mit einem Relativgewicht nach BROCA über 110% weist demgegenüber höhere Nüchternkonzentrationen des Insulins auf (40,8 ± 22,5 µU/ml). Die Insulinkonzentrationen nach 30 Minuten, 60 Minuten und 120 Minuten lagen bei 84,1 ± 52,8 µU/ml bzw. 93,9 ± 47,8 µU/ml und 118,6 ± 54,0 µU/ml. Das mittlere Relativgewicht nach BROCA beträgt in dieser Gruppe 127,2 ± 10,0% (siehe Tabelle 12 b).

Ein signifikanter Unterschied besteht beim Vergleich der Nüchterninsulinkonzentrationen ($p < 0,025$). Die übrigen Mittelwerte und Standardabweichungen unterscheiden sich nicht signifikant (siehe Tabelle 13 a). Auch beim Vergleich dieser beiden Gruppen durch die logarithmisch ermittelten Mittelwerte der Insulinsekretion nach Glukosebelastung konnte ein signifikanter Unterschied zu allen Untersuchungszeitpunkten nicht nachgewiesen werden. Nach 0 Minuten wurde der p-Wert mit $> 0,15$ bestimmt, nach 30 Minuten mit $> 0,05$, nach 60 Minuten mit $> 0,20$ und nach 120 Minuten mit $> 0,05$ (siehe Tabelle 13 b).

Überdies wurden von uns die Flächen unter den maßstabgleich gezeichneten Insulinsekretionskurven verglichen, die ein Anhaltsmaß für die Insulinreserve darstellen. Unter Berücksichtigung der Gesamtfläche F_G, die sich aus den Teilflächen F_1, F_2 und F_3 zusammensetzt, ist hier ein signifikanter Unterschied nicht auszumachen (siehe Abbildung 7, $p > 0,15$ (n.s.)).

Auch die Teilflächen F_1, F_2 und F_3 zeigen mit $p > 0,05$ bzw. $p > 0,20$ bzw. $p > 0,15$ keinen statistisch signifikanten Unterschied (Tabelle 14).

Tabelle 12 b

Verhalten der Blutglukose und des Serum-Insulins nach Glukosestimulation bei 13 nicht-Insulinpflichtigen Diabetikern eines Relativgewichtes $\geq$ 110%

	Blutglukose				Insulin-EIA				Rel.Gew. n. BROCA
Nr.	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'	% Soll = 100%
46	105	210	213	173	43,0	160,0	198,0	210,0	134,3
47	161	298	377	428	58,8	144,1	108,2	152,5	144,4
48	189	297	377	454	74,4	48,7	73,1	118,7	128,5
49	148	231	236	357	77,6	41,4	50,5	56,5	140,2
50	138	240	364	318	33,8	39,5	80,9	113,7	126,9
52	87	159	211	217	0,3	31,7	53,3	136,6	118,4
56	177	269	325	351	39,8	36,0	41,4	39,5	116,1
58	133	195	261	255	30,5	41,9	72,4	66,4	111,0
60	103	186	215	133	32,1	151,1	179,6	205,2	129,9
62	159	294	372	383	39,2	72,3	69,8	90,4	128,9
64	250	414	499	533	59,2	133,0	123,0	73,5	133,5
65	205	366	436	557	9,0	47,1	79,1	115,1	126,6
66	194	375	531	574	33,0	146,0	91,0	163,4	114,5
$\bar{x}$	149,9	271,8	339,8	364,1	40,8	84,1	93,9	118,6	127,2
$\pm$ s	45,7	78,6	108,4	143,8	22,5	52,8	47,8	54,0	10,0
$\pm$ s $\bar{x}$	12,7	21,8	30,0	39,8	6,2	14,6	13,2	15,0	2,8

Tabelle 13 a

Vergleich der Serum-Insulin-Mittelwerte von 9 Diabetikern (nicht-Insulin-pflichtig) eines Relativgewichtes < 110% mit den Serum-Insulin-Mittelwerten von 13 Diabetikern eines Relativgewichtes > 110%

	0'	30'	60'	120'	Serum-Insulin (µU/ml)
Diabetiker	21,7	56,4	87,6	83,9	$\bar{x}$
Relativgewicht nach	±	±	±	±	n = 9
BROCA < 110%	12,8	45,2	55,2	33,5	± s
Diabetiker	40,8	84,1	93,9	118,6	$\bar{x}$
Relativgewicht nach	±	±	±	±	n = 13
BROCA > 110%	22,5	52,8	47,8	54,0	± s
p-Werte	$p < 0.025$	$p > 0.10$ (n.s.)	$p > 0.30$ (n.s.)	$p > 0.05$ (n.s.)	

Tabelle 13 b

Vergleich der logarithmisch ermittelten Mittelwerte und Signifikanztabelle der Diabetiker mit einem Relativgewicht nach BROCA < 110% (n = 9) und > 110% (n = 13)

Log x		0'	30'	60'	120'	
Diabetiker		1,169	1,618	1,838	1,868	$\bar{x}$
< 110%	n = 9	0,565	0,382	0,379	0,277	$\pm$ s
Diabetiker		1,431	1,842	1,927	2,027	$\bar{x}$
> 110%	n = 13	0,633	0,280	0,201	0,219	$\pm$ s
	p	> 0.15 (n.s.)	> 0.05 (n.s.)	> 0.20 (n.s.)	> 0.05 (n.s.)	

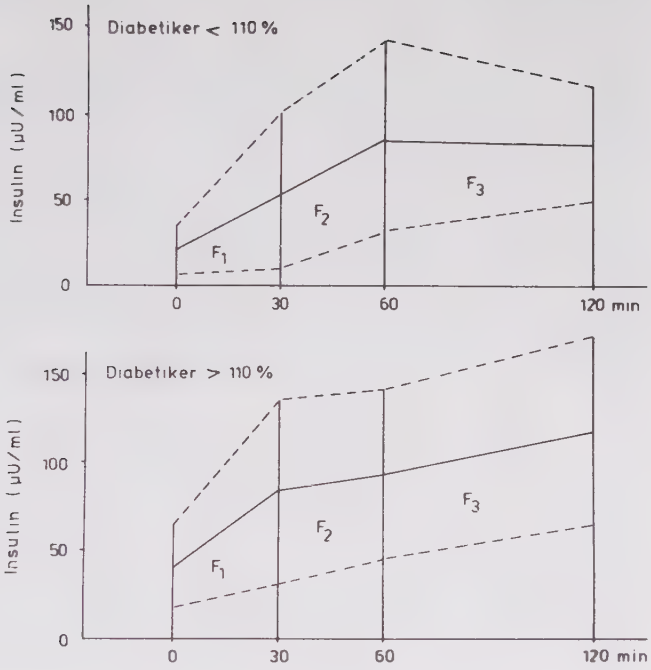


Abb. 7

Vergleich der Flächen unter der Insulinkurve von 9 Diabetikern (nicht insulinpflichtig) eines Relativgewichtes < 110% mit denjenigen von 13 Diabetikern eines Relativgewichtes > 110%.

Tabelle 14

Vergleich der Flächen unter der Insulinkurve von 9 Diabetikern (nicht-Insulin-pflichtig) eines Relativgewichtes < 110% mit denjenigen von 13 Diabetikern eines Relativgewichtes > 110%

	F_G	F_1	F_2	F_3	Fläche unter der Insulinkurve
Diabetiker	41,7	5,85	10,65	25,2	$\bar{x}$
Relativgewicht nach	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	n = 9
BROCA < 110%	25,3	4,35	7,33	12,7	$\pm$ s
Diabetiker	65,4	9,45	13,35	31,8	$\bar{x}$
Relativgewicht nach	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	n = 13
BROCA > 110%	29,3	6,0	7,88	15,45	$\pm$ s
p-Werte	> 0.15 (n.s.)	> 0.05 (n.s.)	> 0.20 (n.s.)	> 0.15 (n.s.)	

Vergleich des EIA/RIA bei 8 Diabetikern

Bei 8 Diabetikern konnte gleichzeitig die Insulinkonzentration im Radio-Immuno-Assay und im Enzym-Immun-Assay bestimmt werden (siehe Abbildung 8). Die mittleren Insulinkonzentrationen sowie das Verhalten der Blutglukose sind in der Tabelle 15 a und b wiedergegeben.

In beiden Fällen findet sich eine protrahierte Insulinfreisetzung mit einem maximalen Insulinwert nach 120 Minuten. Die Einzelwerte sind nicht signifikant unterschiedlich im Enzym-Immun-Assay und im Radio-Immuno-Assay. Auffällig sind relativ hohe Nüchterninsulinwerte. Die Berechnung der Regressionsgeraden und des Korrelationskoeffizienten ergab das in Abbildung 9 wiedergegebene Bild. Der Korrelationskoeffizient betrug 0,656. Die Korrelation war auch bei den Diabetikern signifikant.

Chronische Pankreatitis

Bei 16 Patienten mit chronischer Pankreatitis wurde die Insulinsekretion nach oraler Stimulation mit 100 g Glukose bestimmt. Die Mittelwerte des Serum-Insulins lagen zum Zeitpunkt 0 bei 29,3 $\pm$ 22,4 µU/ml, nach 30 Minuten bei 80,5 $\pm$ 45,2 µU/ml, nach 60 Minuten bei 101,6 $\pm$ 50,2 µU/ml und nach 120 Minuten bei 106,9 $\pm$ 64,7 µU/ml (Einzelwerte siehe Tabelle 16, graphische Darstellung Abbildung 10).

Das Maximum der Insulinsekretion war erst nach 120 Minuten erreicht, entsprechend einer protrahierten Insulinfreisetzung. Signifikante Unterschiede fanden sich nicht. Daraufhin wurde das Krankengut der Patienten mit chronischer Pankreatitis aufgeschlüsselt in

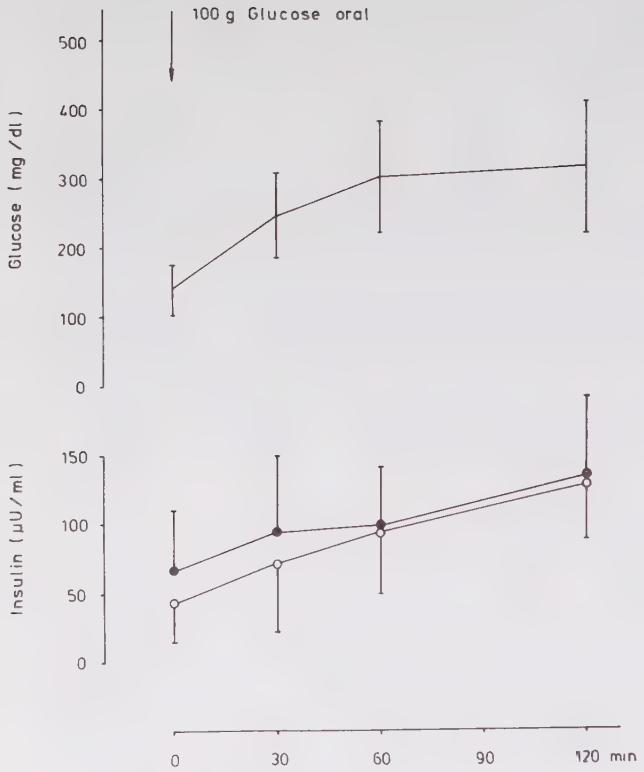


Abb. 8

Diabetiker (n = 8)

Blutglukosekonzentrationen und reaktive Insulinämie im Enzym-Immun-Assay (O———O) und Radio-Immuno-Assay (● ——— ●).

$\bar{x} \pm s$

Tabelle 15 a

Blutglukosekonzentration, Insulinkonzentration im Enzym-Immun-Assay und Radio-Immuno-Assay bei Diabetikern

	Blutglukose				Insulin-EIA				Insulin-RIA				Rel.Gew. n. BROCA
Nr.	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'	% Soll = 100%
46	105	210	213	173	43,0	160,0	198,0	210,0	30,8	124,7	181,9	179,3	134
47	161	298	377	428	58,8	144,1	108,2	152,5	58,5	106,4	74,2	118,0	144
48	189	297	377	454	74,4	48,7	73,1	118,7	29,9	76,3	82,4	132,2	128
49	148	231	236	357	77,6	41,1	50,5	56,5	88,9	59,3	62,2	191,5	140
50	138	240	364	318	33,8	39,5	80,9	113,7	40,9	45,4	96,3	130,4	127
51	145	227	305	361	22,3	76,6	105,2	122,7	32,3	62,2	71,4	62,8	99
52	87	159	211	217	0,3	31,7	53,3	136,6	135,3	215,8	--	56,8	118
53	131	331	383	261	10,3	25,3	73,9	118,3	126,9	80,4	121,4	202,4	99
$\bar{x}$	138	249	308	321	40,1	70,9	92,9	128,6	67,9	96,3	98,5	134,2	124
$\pm$ s	32	56	77	99	28,7	52,5	47,4	43,0	43,7	54,7	41,6	55,2	17
$\pm s_{\bar{x}}$	11	20	27	35	10,2	18,6	16,8	15,2	15,5	19,3	14,8	19,5	6

Tabelle 15 b

Vergleich der Insulinmittelwerte bei 8 Diabetikern im EIA und RIA

	EIA	RIA	2 p
0'	40,1 ± 28,7	67,9 ± 43,7	> 0,20 (n. s.)
30'	70,9 ± 52,5	96,3 ± 54,7	> 0,30 (n. s.)
60'	92,9 ± 47,4	98,2 ± 41,6	> 0,50 (n. s.)
120'	128,6 ± 43,0	134,2 ± 55,2	> 0,80 (n. s.)

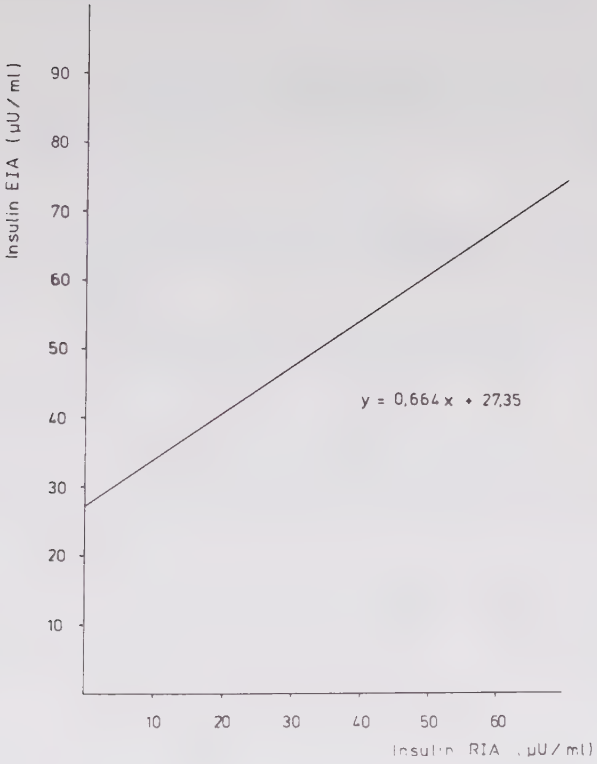


Abb. 9

Regressionsgerade im Methodenvergleich des Enzym-Immun-Assay und Radio-Immuno-Assay bei 8 Diabetikern.

Tabelle 16

Glukose- und Insulinwerte nach Glukosestimulation bei 13 Patienten mit chronischer Pankreatitis und 3 Patienten mit Zustand nach Pankreasteilresektion

n = 16

	Blutglukose				Insulin-EIA			
Nr.	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'
30	67	178	190	84	17,8	76,3	201,3	146,7
31	82	149	170	144	32,3	65,6	94,1	161,8
32	218	292	298	328	33,0	20,5	26,7	30,0
33	75	128	93	69	10,0	120,2	79,8	62,2
34	85	180	178	172	10,3	97,8	136,4	141,6
35	106	265	258	86	15,5	16,6	18,2	20,9
36	92	158	123	108	18,9	109,5	79,9	64,4
37	88	171	169	172	31,0	61,6	85,7	65,6
38	60	112	134	105	33,8	74,1	115,6	95,7
39	84	172	146	115	27,7	58,1	171,1	171,4

Fortsetzung Tabelle 16

	Blutglukose				Insulin-EIA			
Nr.	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'
40	76	124	112	83	25,5	113,4	122,3	207,2
41	65	95	96	76	51,6	143,1	98,7	144,3
42	225	296	371	414	96,5	153,4	94,8	39,6
43	81	97	109	82	12,8	127,0	103,8	83,1
44	117	257	282	261	48,1	41,7	159,3	225,2
45	134	212	311	312	3,5	8,5	37,7	49,9
$\bar{x}$	99,1	180,4	190,0	163,2	29,3	80,5	101,6	106,9
$\pm$ s	55,2	66,5	87,0	107,3	22,4	45,2	50,3	64,7
$\pm$ s $\bar{x}$	13,8	16,6	21,8	26,8	5,6	11,3	12,6	16,2

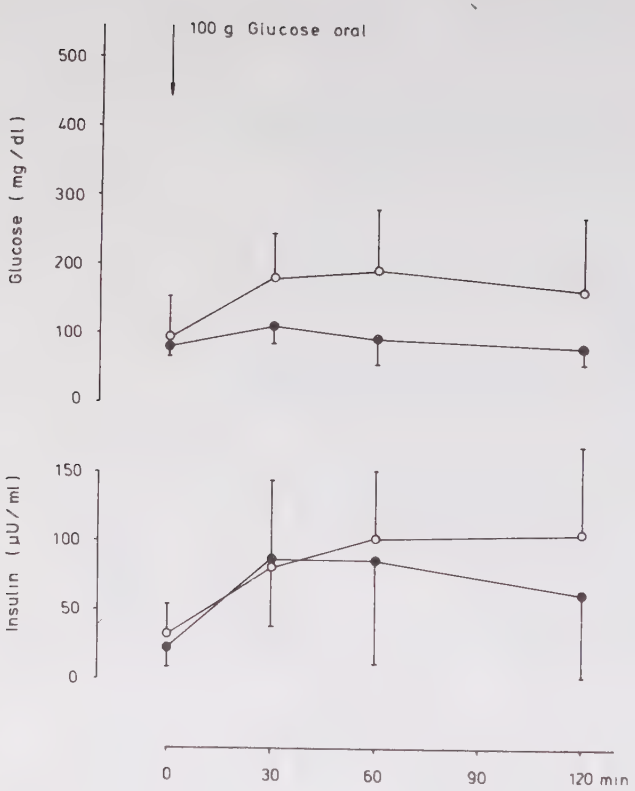


Abb. 10

Blutglukosekonzentrationen und reaktive Insulinämie bei 16 Patienten mit chronischer Pankreatitis (o———o) im Vergleich zu 29 Kontrollpersonen (●———●).

$\bar{x} \pm s$

solche mit einer normalen oralen Glukosetoleranz und solche mit pathologischer Glukosetoleranz.

9 Patienten, die unter oraler Glukosebelastung normale Blutzuckerwerte zeigten, hatten ein Relativgewicht nach BROCA im Mittel bei 98,2 ± 14,5%. Die Serum-Insulin-Werte lagen nüchtern bei 25,6 ± 12,8 µU/ml, nach oraler Glukosebelastung zum Zeitpunkt 30 Minuten bei 98,6 ± 30,5 µU/ml, zum Zeitpunkt 60 Minuten bei 118,5 ± 41,6 µU/ml und zum Zeitpunkt 120 Minuten bei 126,3 ± 51,6 µU/ml (Einzelwerte siehe Tabelle 17, graphische Darstellung Abbildung 11). Der Vergleich der Insulinwerte mit dem Normalkollektiv geht aus der Tabelle 18 hervor. Während die Werte zum Zeitpunkt 0 sowie 30 und 60 Minuten nach Glukosebelastung keine signifikanten Unterschiede aufweisen, jedoch ein protrahierter Anstieg zu verfolgen ist, ist zum Zeitpunkt 120 Minuten der Serum-Insulin-Wert bei den Patienten mit chronischer Pankreatitis und normaler Glukosebelastung jedoch signifikant erhöht gegenüber den 120-Minuten-Werten des Normalkollektivs ($p < 0,05$).

Der Vergleich dieser Werte ist in Tabelle 18 zusammengestellt und die graphische Darstellung aus Abbildung 11 zu erkennen.

Die Einzelwerte der 7 Patienten mit chronischer Pankreatitis und pathologischer Glukosebelastung sind in Tabelle 19 zusammengestellt. Die Serum-Insulin-Werte lagen nüchtern bei diesen Patienten bei 34 ± 31,9 µU/ml und nach oraler Glukosebelastung zum Zeitpunkt 30 Minuten bei 57,2 ± 52,5 µU/ml, nach 60 Minuten bei 79,8 ± 55,0 µU/ml sowie nach 120 Minuten bei 81,4 ± 75,1 µU/ml. Auch die logarithmische Berechnung der gewonnenen Daten und ihr Vergleich mit dem Normalkollektiv kann darüber-

Tabelle 17

Glukose- und Insulinwerte nach Glukosebelastung bei 9 Patienten mit chronischer Pankreatitis bei normalem OGTT

	Glukose				Insulin				Rel.Gew. n.
Nr.	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'	BROCA %
30	67	178	190	84	17,8	76,3	201,3	146,7	74,3
31	82	149	170	144	32,3	65,6	94,1	161,8	98,7
33	75	128	93	69	10,0	120,2	79,8	62,2	92,4
36	92	158	123	108	18,9	109,5	79,9	64,4	120,6
38	60	112	134	105	33,8	74,1	115,6	95,7	84,4
39	84	172	146	115	27,7	58,1	171,1	171,4	102,8
40	76	124	112	83	25,5	113,4	122,3	207,2	91,8
41	65	95	96	76	51,6	143,1	98,7	144,3	102,5
43	81	97	109	82	12,8	127,0	103,8	83,1	115,9
$\bar{x}$	75,8	134,8	130,3	96,2	25,6	98,6	118,5	126,3	98,2
$\pm$ s	10,2	31,0	33,2	23,8	12,8	30,5	41,6	51,6	14,5
$\pm$ s $\bar{x}$	3,4	10,33	11,06	7,93	4,72	10,16	13,87	17,2	4,8

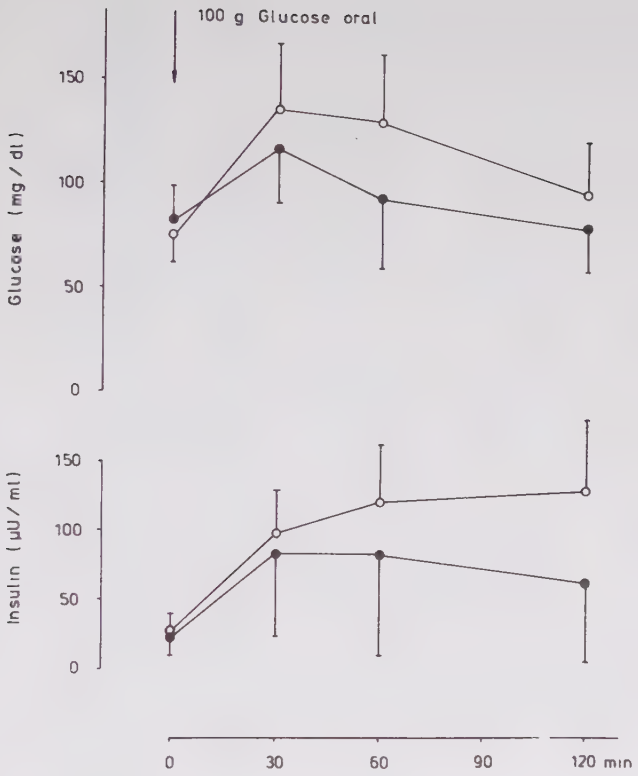


Abb. 11

Blutglukosekonzentrationen und reaktive Insulinämie von 9 Patienten mit chronischer Pankreatitis und normaler Glukosetoleranz (o ——— o) im Vergleich zu 29 Kontrollpersonen (● ——— ●).

$\bar{x} \pm s$

Tabelle 18

Vergleich der Insulinwerte von 9 Patienten mit chronischer Pankreatitis und normaler Glukosetoleranz mit den Insulinwerten von 29 Normalpersonen

	0'	30'	60'	120'	Insulin/Serum (µU/ml)
Normalkollektiv	22,6 ± 10,4	81,9 ± 58,0	80,3 ± 75,8	61,0 ± 59,1	$\bar{x}$ n = 29 ± s
CP mit normalem OGTT	25,6 ± 12,8	98,6 ± 30,5	118,5 ± 41,6	126,3 ± 51,6	$\bar{x}$ n = 9 ± s
p-Wert	$p > 0.30$ (n.s.)	$p > 0.30$ (n.s.)	$p > 0.20$ (n.s.)	$p < 0.05$	

Tabelle 18 a

Vergleich der logarithmisch ermittelten Mittelwerte der Seruminsulinkonzentrationen nach oraler Glukosebelastung bei 29 Normalpersonen und 9 Patienten mit chronischer Pankreatitis und normalem OGTT

Log x	0'	30'	60'	120'	
Normalkollektiv	1,315	1,810	1,773	1,648	$\bar{x}$
n = 29	0,200	0,300	0,318	0,321	$\pm$ s
Chronische Pankreatitis	1,359	1,974	2,053	2,065	$\bar{x}$
mit normalem OGTT	0,223	0,141	0,138	0,193	$\pm$ s
n = 9					
p	$>$ 0.25 (n.s.)	$>$ 0.05 (n.s.)	$<$ 0.01	$<$ 0.0005	

hinaus wie in der vorhergehenden Berechnungsweise eine protrahierte Insulinfreisetzung gegenüber dem Normalkollektiv nachweisen. Hier bestehen signifikante Unterschiede bereits nach 60 und 120 Minuten mit einem p-Wert von $< 0{,}01$ bzw. $< 0{,}0005$ (siehe Tabelle 18 a).

Der Vergleich mit dem Normalkollektiv (Abbildung 12) ergab, wie in Tabelle 20 und 20 a dargestellt, eine protrahierte Insulinfreisetzung, bei der der Nüchternwert höher als im Normalkollektiv lag, der 30-Minuten-Wert niedriger und der 120-Minuten-Wert wieder höher bestimmt wurde. Signifikante Unterschiede fanden sich jedoch aufgrund der kleinen Zahl nicht.

Der Vergleich der 9 Patienten mit chronischer Pankreatitis und normaler Glukosetoleranz mit den Patienten mit chronischer Pankreatitis und pathologischer Glukosetoleranz ist in Tabelle 21 sowie Abbildung 13 wiedergegeben. Während der Serum-Insulin-Wert in Nüchternheit bei den Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz leicht gegenüber den Patienten mit normaler oraler Glukosetoleranz jedoch nicht signifikant höher liegt, finden sich nach Glukosebelastung zum Zeitpunkt 30, 60 und 120 deutlich niedrigere Insulinwerte bei den Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz. Diese Erniedrigung ist 30 Minuten nach der oralen Glukosebelastung im numerischen System signifikant ($p < 0{,}05$). Nach Umrechnung ins logarithmische System (Tabelle 21 a) zeigt sich, daß der Unterschied auch zum Zeitpunkt 60 und 120 Minuten signifikant ist (nach 30 Minuten $p < 0{,}0125$, nach 60 Minuten $p < 0{,}05$, nach 120 Minuten $p < 0{,}05$).

Desweiteren wurde der Versuch unternommen, trotz der geringen Zahl einen Hinweis auf die Frage zu erhalten, ob der Schweregrad der chronischen Pankreatitis mit dem Aus-

Tabelle 19

Blutglukose- und Insulinwerte unter Glukosebelastung bei 7 Patienten mit chronischer Pankreatitis und pathologischem OGTT

	Blutglukose				Insulin				Rel.Gew. n.	
Nr.	0'	30'	60'	120'	0'	30'	60'	120'	BROCA	%
32	218	292	298	328	33,0	20,5	26,7	30,0	133,9	
34	85	180	178	172	10,3	97,8	136,4	141,6	118,9	
35	106	265	258	86	15,5	16,6	18,2	20,9	93,0	
37	88	171	169	172	31,0	61,6	85,7	65,6	91,7	
42	225	296	371	414	96,5	153,4	94,8	39,6	95,8	
44	117	257	282	261	48,1	41,7	159,3	225,2	86,8	
45	134	212	311	312	3,5	8,5	37,7	49,9	109,3	
$\bar{x}$	139,0	239,0	266,7	249,3	34,0	57,2	79,8	81,4	104,2	
$\pm$ s	58,8	51,0	72,5	112,6	31,5	52,5	55,0	75,1	17,2	
$\pm$ s $\bar{x}$	22,3	19,5	27,4	42,6	11,9	19,9	20,8	28,4	6,5	

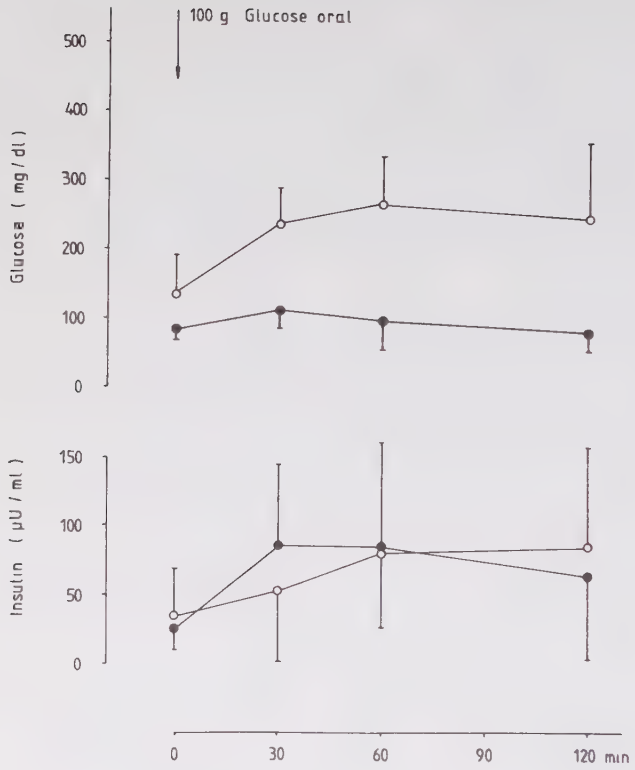


Abb. 12

Blutglukosekonzentrationen und reaktive Insulinämie von 7 Patienten mit chronischer Pankreatitis und pathologischer Glukosebelastung (o ——— o) im Vergleich zu 29 Kontrollpersonen (● ——— ●).

$\bar{x} \pm s$

Tabelle 20

Vergleich der Seruminsulinkonzentration nach oraler Glukosebelastung bei 29 Normalpersonen und 7 Patienten mit chronischer Pankreatitis und pathologischem OGTT

	0'	30'	60'	120'	Seruminsulin (µU/ml)
Normalkollektiv	22,6 ± 10,4	81,9 ± 58,0	80,3 ± 75,8	61,0 ± 59,1	$\bar{x}$ n = 29 ± s
CP mit pathologischem OGTT	34,0 ± 31,5	57,2 ± 52,5	79,8 ± 55,0	81,4 ± 75,1	$\bar{x}$ n = 7 ± s
p-Wert	> 0.05 (n.s.)	> 0.20 (n.s.)	> 0.45 (n.s.)	> 0.25 (n.s.)	

Tabelle 20 *a*

Vergleich der logarithmisch ermittelten Mittelwerte der Seruminsulinkonzentration nach oraler Glukosebelastung bei 29 Normalpersonen und 7 Patienten mit pathologischem OGTT

Log x	0'	30'	60'	120'	
Normalkollektiv	1.315 ± 0,200	1.810 ± 0,300	1.773 ± 0,318	1.648 ± 0,321	$\bar{x}$ n = 29 ± s
CP mit pathologischem OGTT -	1.346 ± 0,474	1.578 ± 0,448	1.787 ± 0,366	1.773 ± 0,367	$\bar{x}$ n = 7 ± s
p-Wert	> 0.30 (n.s.)	> 0.05 (n.s.)	> 0.40 (n.s.)	> 0.20 (n.s.)	

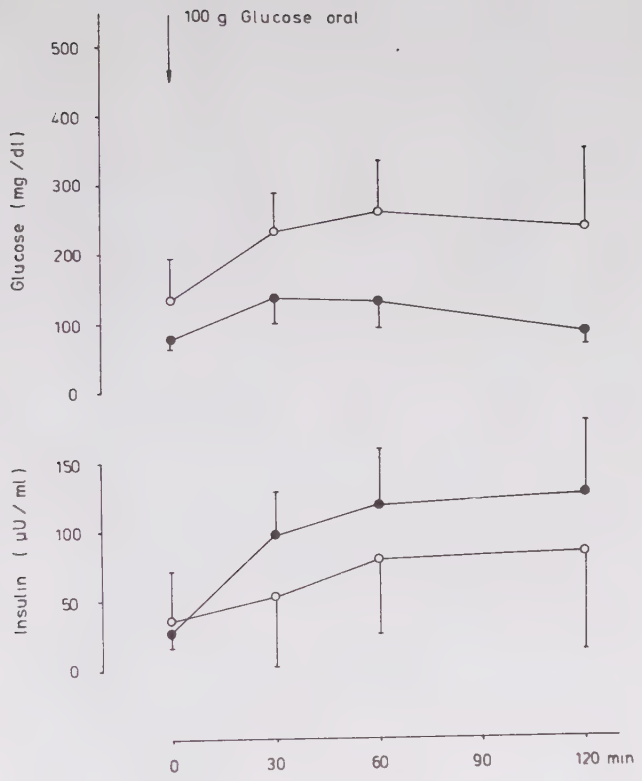


Abb. 13

Vergleich der Blutglukosekonzentrationen und reaktiven Insulinämie bei 9 Patienten mit chronischer Pankreatitis und normaler Glukosetoleranz (● ——— ●) und 7 Patienten mit chronischer Pankreatitis und pathologischer Glukosebelastung (o ——— o).

$\bar{x} \pm s$

Tabelle 21

Vergleich der Insulinwerte von 9 Patienten mit chronischer Pankreatitis und normalem OGTT mit den Insulinwerten von 7 Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz

	0'	30'	60'	120'	Seruminsulin (µU/ml)
CP mit normalem OGTT	25,6 ± 12,8	98,6 ± 30,5	118,5 ± 41,6	126,3 ± 51,6	$\bar{x}$ ± s, n = 9
CP mit pathologischem OGTT	34,0 ± 31,5	57,2 ± 52,5	79,8 ± 55,0	81,4 ± 75,1	$\bar{x}$ ± s, n = 7
p-Wert	> 0.20 (n.s.)	< 0.05	> 0.05 (n.s.)	> 0.05 (n.s.)	

Tabelle 21 a

Vergleich der logarithmisch ermittelten Mittelwerte (Mediane) des Seruminsulins von 9 Patienten mit chronischer Pankreatitis und normalem OGTT mit 7 Patienten mit chronischer Pankreatitis und pathologischem OGTT nach Glukosestimulation

Log x	0'	30'	60'	120'	
Chronische Pankreatitis	1,359	1,974	2,053	2,065	$\bar{x}$
mit normalem OGTT	0,223	0,141	0,138	0,193	$\pm$ s
n = 9					
Chronische Pankreatitis	1,346	1,578	1,787	1,773	$\bar{x}$
mit pathologischem OGTT	0,474	0,448	0,366	0,367	$\pm$ s
n = 7					
p	> 0.45 (n.s.)	< 0.0125	< 0.05	< 0.05	

maß der Insulinsekretionsstörung zu korrelieren ist. Dazu wurde einmal versucht, den Schweregrad der chronischen Pankreatitis mittels des Ausmaßes der Veränderungen in der retrograden Pankreasgangdarstellung zu definieren, zum anderen die Patienten mit nachgewiesener exkretorischer Funktionsstörung als eigene Gruppe betrachtet. Diese Patienten sind gruppenweise in Tabelle 22 zusammengefaßt.

Bei der vergleichenden Untersuchung von Pankreasgangveränderungen II. und III. Grades sowie verschiedener exkretorischer Funktionseinschränkungen die durch Pankreolauryltest, verminderte Chymotrypsinkonzentration oder erhöhte Stuhlfettgewichte sowie durch radiologisch nachweisbaren Pankreaskalk definiert wurden, zeigt sich folgendes Ergebnis:
In der Gruppe mit den Pankreasgangveränderungen II. Grades wird die Nüchterninsulinkonzentration mit 34,7 µU/ml $\pm$ 26,1 µU/ml ermittelt, nach 30 Minuten steigt die Insulinkonzentration auf 99,4 $\pm$ 38,1 µU/ml, nach 60 Minuten auf 117,6 µU/ml $\pm$ 29,9 µU/ml, um nach 120 Minuten das Maximum der Konzentration mit 133,2 $\pm$ 61,6 µU/ml zu erreichen. Vergleichend dazu wird die Insulinkonzentration bei den Patienten mit Pankreasgangveränderungen III. Grades nüchtern mit 17,8 $\pm$ 13,8 µU/ml gemessen, nach 30 Minuten liegt dieser Wert bei 59,9 $\pm$ 50,5 µU/ml, erreicht nach 60 Minuten 67,8 $\pm$ 26,2 µU/ml und fällt danach geringgradig zum Zeitpunkt 120 Minuten auf 59,9 $\pm$ 8,7 µU/ml ab. Der statistische Vergleich dieser beiden Gruppen zeigt, daß zum Zeitpunkt 0 bzw. 30 Minuten keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen bestehen. Eine Signifikanz ist nach 60 Minuten mit $p < 0{,}0125$ bzw. nach 120 Minuten mit $p < 0{,}05$ nach-

Tabelle 22

Mittlere Insulinkonzentrationen bei Patienten mit chronischer Pankreatitis bzw. Pankreasteilresektion in Abhängigkeit der Schwere der Pankreasgangveränderungen und verschiedener Parameter exkretorischer Funktionseinschränkung

Insulin (µU/ml)	Pankreaskalk radiologisch n = 3	Pankreasgangveränderung Grad II n = 10	Pankreasgangveränderung Grad III n = 3	Zust. n. Pankreasteilresektion n = 3	Patholog. Pankreolauryltest n = 4	Patholog. Chymotrypsinkonzentrat./Stuhl n = 4	Patholog. erhöhter Stuhlfettgehalt n = 4	Normalkollektiv n = 29	
nüchtern	20,33	$34,68^{+}$	$17,8^{+}$	22,1	17,45	22,2	23,5	22,6	$\bar{x}$
	6,48	26,05	13,78	9,50	12,11	10,13	8,25	10,4	$\pm$ s
30 Minuten	50,33	$99,44^{+}$	$59,86^{+}$	37,8	30,48	68,77	42,87	81,9	$\bar{x}$
	30,59	38,05	50,52	33,39	30,95	41,41	29,09	58,0	$\pm$ s
60 Minuten	130,2	$117,59^{+++}$	$67,76^{+++}$	82,07	70,97	133,87	104,32	80,3	$\bar{x}$
	98,16	29,86	26,19	103,34	87,25	76,21	95,40	75,8	$\pm$ s
120 Minuten	113,0	$133,21^{++}$	$59,93^{++}$	65,86	61,87	122,42	92,25	61,0	$\bar{x}$
	80,71	61,58	8,70	70,15	57,83	62,97	77,87	59,1	$\pm$ s

\+ = nicht signifikant

++ = $p < 0,05$

+++ = $p < 0,0125$

weisbar. Die Auswertung der übrigen Gruppen kann aufgrund der vorliegenden kleinen Fallzahl und der dadurch bedingten außerordentlich hohen Streuung statistisch nicht durchgeführt werden. Ein einheitlicher Trend läßt sich in diesen Gruppen nicht erkennen, eine Korrelation einer exkretorischen Funktionseinschränkung zum Grad einer inkretorischen Funktionsstörung läßt sich bei diesen Gruppen somit nicht treffen.

D. Diskussion

Die Funktion der pankreatischen B-Zelle zu kennen ist bei zahlreichen Erkrankungen von wissenschaftlichem und klinischem Interesse. Unter den Erkrankungen mit gestörter B-Zellfunktion stellt der Diabetes mellitus zahlenmäßig das größte Kontingent. In schwerpunktmäßig gastroenterologisch ausgerichteten Kliniken spielt darüberhinaus die chronische Pankreatitis sowie der Zustand nach Pankreasteilresektion (z. B. totale Pankreatektomie, Pankreasgangligatur) eine besondere Rolle. Funktionsstörungen der B-Zelle, die genauer definiert werden müssen, um die optimale Therapie zu bestimmen, finden sich weiterhin beim Hyperinsulinismus sowie den unterschiedlichen Formen der reaktiven Hyperinsulinämie.

Ziel der vorstehend beschriebenen Ergebnisse war es deshalb, eine enzymimmunologische Methodik zur Insulinbestimmung zu testen, die die Insulinbestimmung auch ohne radioaktive Tracersubstanzen in jedem normalen Labor gestattet. Dabei war das Ziel die Beantwortung folgender Fragen:

1. Wie verläßlich ist der Enzym-Immun-Assay-Insulin?
2. Welche Ergebnisse zeigen die Bestimmung des Serum-Insulins unter oraler Glukosestimulation bei Normalpersonen und wie verhalten sie sich im Vergleich zu den in der Literatur bekannten Normalwerten?
3. Was ergibt der Vergleich der Insulinbestimmung mittels Enzym-Immun-Assay und Radio-Immuno-Assay im Verlauf der oralen Glukosebelastung?
4. Welche Ergebnisse zeigen die immunenzymatischen Bestimmungen des Insulins unter oraler Glukosebelastung bei Diabetikern und sind sie mit den durch Radio-Immuno-Assay ermittelten Werten vergleichbar?

5. Welche Resultate ergibt die enzymimmunologische Insulinbestimmung unter oraler Glukosebelastung bei der chronischen Pankreatitis und wie sind sie in die bestehende Literaturmitteilung zu integrieren?

Bevor diese Fragen im einzelnen diskutiert werden, muß noch einmal auf die Problematik der Bewertung des Blutglukoseverlaufs unter oraler Glukosebelastung eingegangen werden.

Wichtigste Untersuchung zur Klärung der Frage, ob eine normale oder eine gestörte Glukosehomöostase, d. h. eine nicht-diabetische oder diabetische Stoffwechselsituation vorliegt, war bis zur Möglichkeit der Insulinbestimmung die alleinige Verfolgung der Glukosewerte nach oraler Glukosebelastung. Die Blutglukosewerte nach oraler Glukoseaufnahme sind insbesondere deshalb von erheblicher Bedeutung, weil die Bestimmung der reinen Nüchtern-Blutzuckerwerte trotz Vorliegens einer bereits pathologischen Insulinsekretion durchaus im Normbereich liegende Werte erbringen kann. Die Problematik der Durchführung des oralen Glukosetoleranztestes ist bisher nicht gelöst (Übersicht siehe KÖBBERLING, Internist 1980).

Dies betrifft

a) die Glukosemenge für die Belastung, die zwischen 50 g bis 100 g von den unterschiedlichsten Autoren vorgeschlagen wird. Während die Empfehlungen der WHO-Kommission von 1980 eine Provokationsdosis von 75 g Kohlehydrate festsetzt, wird insbesondere im deutschsprachigen Raum die Glukosetoleranz mit 100 g durchgeführt.
b) In der Auswertung der Glukosetoleranztestung ist sicher, daß der Nüchternblutzuckerwert keine große Aussage über eine diabetische Stoffwechsellage und damit über eine B-Zell-Insuffizienz zuläßt. Die Frage, ob

dem 1-Stunden-Wert nach der Glukosebelastung oder dem 2-Stunden-Wert die größere Bedeutung beizumessen ist, bedarf noch der endgültigen Klärung. Entsprechend den Empfehlungen von HASLBECK, die eine Zusammenfassung der Ergebnisse der Nationalen Diabetes Datagroup (1979), des WHO-Reports von 1980 darstellen, besteht eine gestörte Glukosetoleranz nach Provokation mit 100 g Glukose bei einem 2-Stunden-Wert von über 140 mg/dl und einem 1-Stunden-Wert von über 200 mg/dl. Entscheidend in diesem Zusammenhang ist die Frage, wieviel Prozent der mit einer gestörten Glukosetoleranz erfaßten Patienten im Verlauf ihres weiteren Lebens einen manifesten Diabetes entwickeln oder nicht. Längere prospektive Untersuchungen liegen hier insbesondere von GUTSCHE und Mitarbeiter vor, die den 1- und 2-Stunden-Wert in Beziehung setzten und so 3 Gruppen herausarbeiteten:
Gruppe 1: Den nicht-diabetischen Bereich.
Gruppe 2: Den Grenzbereich, aus dem im Verlaufe der Beobachtungszeit von 5 - 10 Jahren 50% einen manifesten Diabetes entwickeln.
Gruppe 3: Den diabetischen Bereich.

Eine Entwicklung von einer gestörten Glukosetoleranz zu einem manifesten Diabetes kann auch in der Gruppe 2 nicht mit Sicherheit angenommen werden.

Aufgrund des vorher Gesagten haben wir uns zur oralen Glukosetoleranz mit 100 g Glukose entschieden und den Test auf eine Beobachtungszeit von 2 Stunden begrenzt, was praktisch klinisch auch ohne Schwierigkeiten durchführbar ist.

Die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse ist ausgesprochen gering. Deshalb verbietet sich die Diagnosestellung aufgrund nur eines Testes. In der Zusammenfassung von KÖBBERLING und Mitarbeiter (1980) und von HASLBECK und

Mitarbeiter (1980), in denen ein Verlauf von 11 Jahren zur Beobachtung kommt, wird die Treffsicherheit der oralen Glukosetoleranz zur Erkennung eines manifesten Diabetes mit 60,8% und einer dauernd gestörten Glukosetoleranz (bisherige Nomenklatur: subklinischer Diabetes mellitus) mit 35,3% angegeben. Die Treffsicherheit dürfte mit 100 g Glukosebelastung höher liegen als es unter den von der WHO empfohlenen 75 g Glukosebelastung erwartet werden kann.

Zu 1

Vor Einführung der Methodik wurde die Reproduzierbarkeit der enzymimmunologischen Insulinbestimmung durch Kontrolle der Präzisionen in der Serie geprüft. Dazu wurde

1. ein Kontrollserum mit vorgegebener niedriger Insulinkonzentration (Standard-Konzentration 30 µU/ml),
2. ein Kontrollserum mit vorgegebener höherer Insulinsekretion (Standard-Konzentration 55 µU/ml),
3. der Nüchterninsulinwert eines Patienten sowie
4. der 30-Minuten-Wert nach Glukosestimulation des gleichen Patienten benutzt.

Wie bei der Präzisionskontrolle in der Serie üblich, wurden von jeder Probe mindestens 10 Doppelbestimmungen durchgeführt und aus den mittels 10 Doppelbestimmungen erfaßten Meßpunkten die Präzision der Extinktionswerte sowie der Variationskoeffizient der ermittelten Absolutwerte errechnet.

Für das Kontrollserum mit bekannter niedriger Insulinkonzentration von 30 µU/ml fand sich ein Variationskoeffizient der Extinktion von 2,6%. Die aus dieser Extinktion ermittelte mittlere Insulinkonzentration lag bei 33,5 $\pm$ 3,3 µU/ml ($\bar{x} \pm s$) und der Variationskoeffizient der Absolutwerte betrug 9,9%. Die Präzision für das Kontrollserum einer Standardkonzentration von 55 µU/ml

wurde die mittlere Insulinkonzentration mit 45,7 ± 5,3 µU/ml bestimmt und ein Variationskoeffizient von 11,5% errechnet. Bei 10-fach-Bestimmung der Präzision des Nüchternserums eines normalen nicht-diabetischen Patienten wurde ein Insulinwert von 25,6 ± 0,8 µU/ml ($\bar{x} \pm s$) mit einem Variationskoeffizienten dieser Bestimmung von 3,1% ermittelt. Wie zu erwarten, war 30 Minuten nach oraler Glukosestimulation mit 100 g Glukose mit Anstieg des mittleren Insulinwertes auf 61,6 ± 3,9 µU/ml ($\bar{x} \pm s$) der Variationskoeffizient auf 6,3% gestiegen.

Für den Radio-Immuno-Assay, wie er in der Medizinischen Klinik des Ferdinand-Sauerbruch-Klinikums Wuppertal-Elberfeld durchgeführt wurde, lagen bereits die Bestimmung der Präzisionen in der Serie von 1974/75 vor. Die erneute Präzisionsbestimmung eines Kontrollserums des Sollbereichs 38 - 52 µU/ml ergab eine mittlere Insulinkonzentration von 47,7 ± 2,2 µU/ml. Der Variationskoeffizient wurde mit 4,7% ermittelt. Aus einem Patientenserum nach Stimulation mit 100 g Glukose nach 30 Minuten wurde ein mittlerer Insulinwert von 41 ± 2,4 µU/ml entsprechend einem Variationskoeffizient von 5,8% aus 12 Bestimmungen ermittelt.

Die für die Präzisionskontrolle der enzymimmunologischen Insulinbestimmung angegebenen Werte des Variationskoeffizienten wurden bei dem Aufbau der Methodik sukzessive erarbeitet. Die Reproduzierbarkeit war zu Beginn der Untersuchung außerordentlich schlecht, wie Variationskoeffizienten von ca. 30% sowohl der Kontrollseren mit niedriger als auch mit hoher Insulinkonzentration erkennen ließen. Das gleiche war in Serumproben von nüchtern und 30 Minuten nach oraler Glukosestimulation kontrollierten Normalpersonen feststellbar. Die Suche nach der Fehlerquelle der Methodik ergab zwei für die Verbesserung wesentliche Änderungen:

1. die üblichen Aqua-dest-Präparationen konnten eine bakterielle Kontamination nicht ausschließen lassen und einen sich daraus möglicherweise ergebenden enzymatischen Abbau durch bakterieneigene Stoffwechselprodukte und Fermente. Diese Unwägbarkeit wurde durch Verwendung sterilen Aqua dest. umgangen.
2. Entgegen den ersten Untersuchungen wurde ein strenger Zeittakt von der Inkubation der Seren in die Reaktionsgefäße bis zur Photometrie eingeführt.
3. Außerdem erfolgte eine, in Absprache mit der Herstellerfirma durchgeführte Auswahl der Charge (anfänglich wurden verschiedene Chargen von der Herstellungsfirma wieder zurückgezogen bzw. nicht ausgeliefert, weil die Beschickung der Teströhrchen mit dem Antikörper offensichtlich nicht optimal war).

Nach Elimination dieser Störfaktoren wurden die oben angegebenen Variationskoeffizienten erreicht. Diese erscheinen uns auch unter Berücksichtigung der in der Literatur angegebenen Vorschlagszahlen für Variationskoeffizienten bei klinisch-chemischen Methoden durchaus akzeptabel. So werden die Variationskoeffizienten, die für übliche klinisch-chemische Methoden gefordert werden. nach RICK, W. (1974) und der BUNDESÄRZTEKAMMER (1971) mit 5% veranschlagt. Für enzymimmunologische Methoden liegen die Anhaltszahlen bei 5 - 20% (BORNER 1977, RUDORFF 1979) und für den Radio-Immuno-Assay bei 8,4 - 13,2% (BÖTTGER und LÖFFLER 1976, JAHNKE 1977, LÖFFLER 1975). Die starke Streuung bei Hormonanalysen unterschiedlicher Art sind bekannt, wie z. B. für Thyroxin mit 3,4 - 22% (BORNER und Mitarbeiter 1979) und Glukagon 8,4 - 15,7% (BÖTTGER und LÖFFLER 1976). Die Bestimmung der Präzision des Radio-Immuno-Assay wurde orientierend von dem gleichen Laboratorium noch einmal wiederholt, in dem sie 1975 bereits mit einem Variationskoeffizienten von 4,7 bis 5,8% bestimmt wurde. Nach derartig vorbereiteter Methodik erschien uns der Einstieg in die klinische Anwendung gerechtfertigt.

Zu 2

Der Frage, welche Ergebnisse die Bestimmung des Serum-insulins bei Normalpersonen erbrachte, wurde durch Untersuchung von 29 Personen nachgegangen. Hierbei handelte es sich um 13 männliche und 16 weibliche Freiwillige, deren Durchschnittsalter 31,6 Jahre betrug, bei einer mittleren Körpergröße von 171,7 cm und einem Körpergewicht von 67,7 kg. Dabei schwankten die Gewichte der Normalpersonen um das nach der modifizierten BROCA-Formel aufgestellte Normalgewicht.

Der Nüchternblutzucker dieser Patienten lag bei 82,0 $\pm$ 14,1 mg/dl, der Blutzuckerwert nach 30 Minuten bei 113,1 $\pm$ 25,9 mg/dl, der Blutzuckerwert nach 60 Minuten bei 94 $\pm$ 33,5 mg/dl, nach 120 Minuten bei 79,4 $\pm$ 20,1 mg/dl. Aus den in Tabelle 5 zusammengestellten Einzelwerten der Patienten ist zu sehen, daß abgesehen von einem 2-Stunden-Wert des Patienten Nr. 27, der über 120 mg/dl lag und den beiden im Grenzbereich liegenden Nüchternwerten der Patienten Nr. 23 und 25, die übrigen Werte alle im nicht-diabetischen Bereich, entsprechend den Kriterien von GUTSCHE und Mitarbeiter (1975), eingestuft werden konnten.

Das Verhalten der Insulinwerte nach Stimulation mit 100 g Glukose zeigte bei einem Nüchternwert von 22,6 $\pm$ 10,4 µU/ml den Gipfel der Insulinsekretion bereits 30 Minuten nach Stimulation mit 81,9 $\pm$ 58,0 µU/ml ($\bar{x} \pm s$). Nach 60 Minuten und 120 Minuten waren die Werte wieder deutlich rückläufig ($\bar{x} \pm s$). Diese Insulinkinetik entspricht mit einem Gipfel, der zwischen 30 und 60 Minuten nach Stimulation mit 100 g Glukose oral erreicht ist, der überwiegenden Zahl der in der Literatur nachweisbaren Mitteilungen (YALOW und BERSON 1960, MEADE und KILTGAARD 1962, BUCHANAN und MCKIDDIE 1967, LIEBERMEISTER und Mitarbeiter 1968, REAVEN und Mitarbeiter 1968, GENUTH 1969, DAWEKE und Mitarbeiter 1970, SAVAGE und Mitarbeiter 1975, GUTSCHE und Mitarbeiter 1975, JAHNKE 1977, HAUPT und Mitarbeiter 1981).

Hervorzuheben ist hier die außerordentlich hohe Streuung, die einmal die tatsächlichen biologischen Variationsbreiten wiedergibt, zum anderen aber auch wohl dadurch verursacht ist, daß es sich bei den vorliegenden biologischen Daten um eine logarithmische Normalverteilung handelt.

Zu 3

Im Vergleich mit dem Radio-Immuno-Assay findet sich ein ähnlicher kinetischer Verlauf, wobei auch hier der Gipfel bei 30 Minuten nach Glukosebelastung erreicht ist. Auffällig ist, daß der mittels RIA bestimmte Nüchternwert nur etwa halb so hoch liegt, wie der Nüchternwert der enzymimmunologischen Insulinbestimmung. Auch bei der logarithmischen Untersuchung des Normalkollektivs zeigte sich, wie schon bei den numerisch ermittelten Werten, daß die Mittelwerte der enzymimmunchemisch erfaßten Insulinkonzentrationen mehr als doppelt so hoch zum Nüchternzeitpunkt, in allen übrigen Fällen weiterhin deutlich über den radioimmunchemisch ermittelten Werten liegen. Es bestehen hochsignifikante Unterschiede nach 0 (2 p $\prec$ 0,001) und 120 Minuten (2 p $\prec$ 0,025). Die Insulinkinetik entspricht mit dem Maximalwert nach 30 Minuten und einem deutlichen Abfall während der übrigen Untersuchungsdauer den numerischen Kurvenverläufen.

Dieses Verhalten der Nüchternwerte spricht für eine im unteren Konzentrationsbereich höhere Empfindlichkeit bzw. ein höheres Auflösungsvermögen des Radio-Immuno-Assay. Im weiteren Verlauf (30', 60' und 120') zeigt sich ebenfalls, daß der Mittelwert der enzymimmunologischen Insulinbestimmung höher liegt, als die Insulinbestimmung im Radio-Immuno-Assay. Die prozentuale Differenz ist jedoch deutlich geringer. In den Untersuchungen wurde dann weiterhin der Frage nach der Korrelation zwischen Enzym-Immun-Assay und Radio-Immuno-Assay nachgegangen. Dabei fand sich, wie dies in Abbildung 5 wiedergegeben ist, eine hochsignifikante Korrelation der Insulinbe-

stimmung im Radio-Immuno-Assay und Enzym-Immun-Assay sowohl für die Nüchtern- als auch die 30-, 60-, und 120-Minuten-Werte. Zusammenfassend kann zu dem Vergleich zwischen Radio-Immuno-Assay und Enzym-Immun-Assay gesagt werden, daß die enzymimmunologisch bestimmten Werte im gesamten Verlauf der glukosestimulierten Insulinsekretion höher gemessen wurden, als dies durch den Radio-Immuno-Assay möglich ist. Dies läßt besonders für den Nüchternwert annehmen, daß der Radio-Immuno-Assay niedrigere Konzentrationen erfaßt als dies der Enzym-Immun-Assay vermag. Die untere Grenze der Bestimmungsmethode des Enzym-Immun-Assays scheint knapp über 20 µU/ml zu liegen.

Zu 4

Im Hinblick auf die klinische Anwendung wurden 22 nicht insulinbedürftige Diabetiker des Typs II hinsichtlich ihrer Insulinsekretion unter Stimulation mit 100 g Glukose untersucht. Auffällig gegenüber dem Normalkollektiv war insbesondere der protrahierte Verlauf der Insulinsekretion, der bei bereits in Nüchternheit gering jedoch nicht signifikant erhöhten Werten über 72,7 µU/ml auf 91,3 µU/ml nach 60 Minuten anstieg, um einen weiteren Anstieg zum Zeitpunkt 120 Minuten mit 104,4 µU/ml aufzuweisen. Dies entspricht nach zahlreichen Literaturmitteilungen dem typischen protrahierten Anstieg der Insulinsekretion des Diabetikers mit partieller B-Zellinsuffizienz (HAUSMANN 1974, JAHNKE und Mitarbeiter 1976, FRANKE 1977, WEINGES 1977, SCHAUDER und FRERICHS 1978).

Normal ist der rasche Anstieg des Serum-Insulins mit einem Peak nach 30, spätestens 60 Minuten und der erneute deutliche Abfall nach 120 Minuten. Unter der Frage, welche Rolle dem Gewicht in diesen Fällen zukam, hatten wir die 22 Patienten in 2 Untergruppen unterteilt. Solche mit einem Relativgewicht nach BROCA unter 110% und solche über 110%. Diese beiden Gruppen unterscheiden

sich sowohl in den Nüchternwerten, in den Maximalwerten und in der Kinetik. Während der Nüchternwert der Gruppe mit geringerem Gewicht bei 21,7 µU/ml gemessen wurde, lag er bei den Patienten mit höherem Gewicht im Mittel nahezu doppelt so hoch bei 40,8 µU/ml ($p < 0{,}025$).

Maximalwerte wurden in der Patientengruppe mit einem Relativgewicht von BROCA unter 110% bereits nach 60 Minuten gemessen, während die Insulinsekretion bei den Patienten mit einem Relativgewicht nach BROCA über 110% erst zum Zeitpunkt 120 Minuten nach der oralen Glukosebelastung nachweisbar waren. Außerdem lagen die Maximalwerte in der höhergewichtigen Patientengruppe über den Maximalwerten der Patientengruppe mit einem Relativgewicht unter 110%. Eine Signifikanz bestand hier jedoch nicht. Bei Ausrechnen der Gesamtfläche unter den Insulinkurven sowie bei der vergleichenden Untersuchung der Teilflächen zu den einzelnen Blutentnahmezeiten konnte zwischen den beiden Gruppen ebenfalls kein signifikanter Unterschied ermittelt werden. Allerdings ist unseres Erachtens sowohl unter Berücksichtigung der Absolutwerte (signifikanter Unterschied zum Zeitpunkt 0 zwischen den beiden Untersuchungsgruppen mit $p < 0{,}025$), als auch beim Vergleich der durch die Insulinkurven umschriebenen Flächen eine deutliche, wenn auch statistisch nicht signifikante Differenz auszumachen. Dies liegt möglicherweise an der inhomogenen Zusammensetzung des Patientenkollektivs, z. B. Fall Nr. 49 und 56, die eine starre Insulinsekretion aufweisen. Werden diese beiden Patienten aus der Untersuchung herausgenommen (Sekundärversagen der SH-Therapie?), so sind die Unterschiede nach 0 und 120 Minuten signifikant ($p < 0{,}025$ bzw. $p < 0{,}05$). Unabhängig davon ist nach unserer Einschätzung und in Anbetracht der Ergebnisse der Unterschied hinsichtlich Kinetik und absoluter Höhe deutlich.

Die Ergebnisse zeigen eindeutig, daß auch mit dem Enzym-Immun-Assay dargelegt werden kann, daß der Typ-II-Diabetiker

1. eine protrahierte Insulinfreisetzung aufweist,
2. dem höheren Körpergewicht eines nichtinsulinpflichtigen Diabetikers erhöhte Insulinwerte entsprechen können,
3. die Nüchterninsulinspiegel bereits in Abhängigkeit von dem Körpergewicht erhöht zu sein scheinen.

Dies entspricht zahlreichen Mitteilungen in der Literatur zu diesem Thema (FAJANS und Mitarbeiter 1975, JAHNKE und Mitarbeiter 1976, SACHSE und WILLMS 1979).

Bei 8 Diabetikern hatten wir Gelegenheit, den Enzym-Immun-Assay und den Radio-Immuno-Assay synchron laufen zu lassen, ebenfalls unter dem Aspekt des Vergleichs der Methodik. In beiden Fällen fand sich eine protrahierte Insulinfreisetzung, ausgehend von bereits deutlich erhöhten Nüchternwerten. Es handelte sich bei diesen 8 Fällen um übergewichtige Patienten mit einem BROCA-Relativgewicht von im Durchschnitt 123,9% (siehe Tabelle 11 a).

Die Einzelwerte sind nicht signifikant unterschiedlich (siehe Tabelle 1 b). Bei der Korrelationsberechnung fanden sich auch bei den Diabetikern eine signifikante Korrelation. Somit erscheint der Enzym-Immun-Assay für die gleichen Indikationen anwendbar wie der Radio-Immuno-Assay.

Zu 5

Gastroenterologisch besonders interessant ist die Frage, wie sich die Insulinsekretion bei der chronischen Pankreatitis verhält. Die Diagnose der hier untersuchten Patienten war mit den üblichen zu fordernden Kriterien erfolgt. Dabei wurde in unserem Krankengut bei allen Patienten Pankreasgangveränderungen der Klassifikation II und höher nach LÖFFLER diagnostiziert. Weitere Kriterien

waren Pankreaskalk in der Röntgenaufnahme des Oberbauchs, sonographisch verdächtige Befunde sowie Zeichen der exkretorischen Insuffizienz mit Nachweis erhöhter Stuhlgewichte, eines erhöhten Stuhlfettgehaltes sowie erniedrigter Chymotrypsinwerte im Stuhl. Bei den von uns untersuchten Patienten war der Sekretin-Pankreozymin-Test als sensibelstes Verfahren der exkretorischen Pankreasfunktionsdiagnostik nicht durchgeführt worden. Insofern ist bei den Patienten mit negativem Chymotrypsintest, grenzwertigen Stuhlgewichten und Stuhlfettwerten die exkretorische Funktionsstörung beginnenden Grades nicht ausgeschlossen. Die Einzelheiten der klinischen Daten sind in Tabelle 2 a zusammengefaßt. Unter den 16 Patienten befanden sich 3 mit Zustand nach Pankreasteilresektion. Die Durchführung der oralen Glukosebelastung ergab bei 9 Patienten unauffällige Werte. Die getrennte Untersuchung dieser Patienten und der Patienten mit pathologischer Glukosebelastung erschien uns unter folgender Fragestellung wichtig:

a) wie verhält sich die Insulinsekretion unter Glukosestimulation? Ist sie bei normaler Glukosetoleranztestung ebenfalls normal oder bereits pathologisch?
b) Welche Veränderungen der Insulinsekretion finden sich bei zunehmender Veränderung der Glukosehomöostase? Denkbar sind hier einmal eine Abnahme der Insulinsekretion, zum anderen aber auch Veränderungen der Insulinkinetik entsprechend den nichtinsulinpflichtigen Typ-II-Diabetikern, die eine protrahierte Insulinfreisetzung zeigen.

Bereits bei der Analyse aller Patienten mit chronischer Pankreatitis fand sich ausgehend von einem gegenüber dem Normalkollektiv geringgradig erhöhten, jedoch statistisch nicht signifikant unterschiedlichen Insulinspiegeln ein verzögerter Anstieg der Sekretionskinetik mit einem Maximum nach 120 Minuten. Bei getrennter Betrachtung der

9 Patienten mit normaler Glukosetoleranz zeigten diese eine Insulinkinetik, die gegenüber dem normalen Kontrollkollektiv eine protrahierte Insulinfreisetzung aufwies (über den 30-Minuten-Wert und den 60-Minuten-Wert wurde das Maximum erst nach 2 Stunden erreicht). Dieser Verlauf entspricht der Insulinkinetik, wie sie beim Typ-II-Diabetiker in der Phase der partiellen B-Zellinsuffizienz nachweisbar ist (siehe oben).

Die Untersuchung der Patienten, die bei chronischer Pankreatitis eine pathologische orale Glukosetoleranz aufwiesen, ergab die gleiche verzögerte Insulinsekretionskinetik, wobei das Maximum der Insulinsekretion ebenfalls erst nach 120 Minuten erreicht war. Die logarithmische Errechnung der statistischen Differenzen zeigte, daß der Nüchternwert der Patienten mit normaler Glukosetoleranz sich nicht signifikant von dem Nüchternwert der Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz unterschied. Im weiteren Verlauf finden sich jedoch signifikant niedrigere Werte bei den Patienten mit pathologischer oraler Glukosetoleranz. Dies zeigt, daß offensichtlich in diesen Fällen der Grad der B-Zellinsuffizienz ausgeprägter ist.

Die Mitteilungen in der Literatur zu dieser Fragestellung sind nicht sehr zahlreich. Nach STROHMEYER (1974) werden Störungen des Kohlehydratstoffwechsels bei Patienten mit chronisch calcifizierender Pankreatitis in 23 bis 70% nachgewiesen. Untersuchungen von GRABNER und Mitarbeiter wurden 1974 durchgeführt. Diese Autoren verglichen die Insulinsekretion unter einer kombinierten Stimulation mit oraler Glukose und intravenöser Glukagon- bzw. Tolbutamidstimulation. Dabei fanden sich bei 74 Patienten mit chronischer Pankreatitis deutlich verminderte Werte der Insulinsekretion nach kombinierter Stimulation. Diese zeigten sich in den Einzelwerten sowie bei Errechnung des insulinogenen Index nach SELTZER und unter Berechnung des Index nach PERLEY und KIPNIS. Die errechneten

Unterschiede zu einem Normalkollektiv von 20 Kontrollpersonen waren zu allen Untersuchungszeitpunkten hochsignifikant.

Unsere Untersuchungen stehen mit den von GRABNER erhobenen Befunden einer verminderten Insulinsekretion zumindest für unser Kollektiv von Patienten mit gestörter Glukosetoleranz in guter Übereinstimmung.

Eine 1975 beendete follow-up-Studie zeigte nach 12 Jahren bei 91% von 235 Patienten mit chronisch-calcificierender Pankreatitis eine gestörte Glukosetoleranz (BANK und Mitarbeiter 1975). Dies zeigt, daß offensichtlich das Auftreten einer gestörten Glukosetoleranz zeitabhängig mit der Dauer der chronischen Pankreatitis häufiger wird. Der Zeitfaktor konnte bei unseren Patienten nicht berücksichtigt werden, da die Diagnose bei der Hälfte unserer Patienten mit chronischer Pankreatitis während des stationären Aufenthaltes in unserer Klinik erstmalig gestellt worden war.

Weiterhin interessant war die Frage, ob eine Korrelation zwischen der Insulinsekretion und den anatomischen und funktionellen Störungen der chronischen Pankreatitis besteht. Hier waren wir uns darüber klar, daß aufgrund der niedrigen Zahl statistisch auswertbare Ergebnisse nicht, Hinweise jedoch durchaus zu erhalten seien. Dazu wurden die Patienten mit chronischer Pankreatitis

1. nach dem unterschiedlichen morphologischen Bild in der ERP,
2. nach der Calcifikation und
3. der exkretorischen Pankreasfunktion analysiert.

Dabei bildeten die Patienten mit Pankreasteilresektion selbstverständlich eine eigene Gruppe. Hier zeigte sich, daß

1. die Patienten mit chronischer Pankreatitis bei Pankreasgangveränderungen II. Grades eine verzögerte Insulinsekretion zeigen und

2. die Sekretionskinetik den Patienten mit einem Diabetes mellitus vom Typ II im Stadium der partiellen B-Zellinsuffizienz entspricht.

Unter Berücksichtigung des Schweregrades der Pankreasgangveränderung konnte nachgewiesen werden, daß mit höhergradigen Pankreasgangveränderungen auch verminderte Insulinkonzentrationen nach Stimulation vorliegen und zwar waren die Unterschiede nach 60 und 120 Minuten zwischen den Patientengruppen mit Pankreasgangveränderungen II. und III. Grades mit $p < 0{,}0125$ bzw. $p < 0{,}05$ signifikant bzw. hochsignifikant. Die Frage, inwieweit eine exkretorische Funktionseinschränkung mit einer inkretorischen Funktionsstörung korreliert ist, läßt sich aus dem vorliegenden Datenmaterial aufgrund der kleinen Stichprobenzahl nicht beantworten und läßt eine saubere statistische Auswertung nicht zu.

Zusammenfassend kann nach Bestimmung der Insulinsekretion bei Patienten mit chronischer Pankreatitis folgendes festgestellt werden:

a) bei allen unseren Patienten mit chronischer Pankreatitis, auch denjenigen mit normaler oraler Glukosetoleranztestung, findet sich ein pathologisches Insulinsekretionsmuster mit protrahierter Insulinfreisetzung.
b) Bei Auftreten einer Glukosetoleranzstörung stellt sich zusätzlich zu der auffälligen Kinetik eine Abnahme der Insulinsekretion zu allen Zeitpunkten nach Stimulation ein.
c) Eine Korrelation zwischen dem Schweregrad der chronischen Pankreatitis und der B-Zellinsuffizienz deutet sich in unserem Krankengut an.

E. Zusammenfassung

Die Anwendbarkeit des Enzym-Immun-Assay-Insulin wurde an 29 Kontrollpersonen dem Radio-Immuno-Assay für Insulin vergleichend gegenübergestellt. Dabei fand sich eine gute Korrelation beider Methoden, wobei die enzymimmunologisch bestimmten Werte durchweg höher liegen als die durch den Radio-Immuno-Assay ermittelten Werte. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen beiden Methoden konnten zum Zeitpunkt O und nach 120 Minuten, also im unteren Konzentrationsbereich nachgewiesen werden. Das Verhalten spricht für eine im unteren Konzentrationsbereich höhere Empfindlichkeit des Radio-Immuno-Assay. Die untere Grenze der Bestimmungsmethode des Enzym-Immun-Assay liegt danach bei 20 µU/ml und damit mehr als doppelt so hoch wie bei der radioimmunologischen Bestimmung.

Die klinische Anwendbarkeit wurde an 22 nicht-insulinbedürftigen Diabetikern des Typs II sowie 16 Patienten mit chronischer Pankreatitis nach oraler Glukosebelastung untersucht.

Auffällig war im Vergleich zum Normalkollektiv der protrahierte Verlauf der Insulinsekretion der Typ-II-Diabetiker mit bereits in Nüchternheit gering erhöhten Werten (im Mittel 73 µU/ml), die ihre maximale Höhe im Gegensatz zum Normalkollektiv erst nach 120 Minuten erreichen. Bei Unterteilung der Diabetiker in Gruppen mit einem Relativgewicht von weniger als 110% nach BROCA und einem Relativgewicht von über 110% nach BROCA konnten keine signifikanten Unterschiede der Insulinsekretion zwischen den Gruppen nachgewiesen werden. Allenfalls deutete sich in den Untersuchungen ein Trend dahingehend an, daß mit höherem Körpergewicht höhere Insulinspiegel korrelieren.

Bei der Untersuchung der 13 Patienten mit chronischer Pankreatitis und den 3 Patienten mit Zustand nach Pankreasteilresektion wurde die Anwendbarkeit des Enzym-Immun-Assay ebenfalls überprüft. Die getrennte Betrachtung von chronischen Pankreatitis-Patienten mit normaler Glukosetoleranz und pathologischer Glukosetoleranz zeigte im Vergleich zum Normalkollektiv, daß trotz normaler Glukosetoleranz eine protrahierte Insulinsekretion vorlag, die ihr Maximum erst nach 2 Stunden erreicht. Dieser Verlauf entspricht der Insulinkinetik, die beim Typ-II-Diabetiker in der Phase der partiellen B-Zellinsuffizienz nachweisbar ist. Die chronischen Pankreatitis-Patienten mit pathologischer Glukosetoleranztestung zeigten ebenfalls eine verzögerte Insulinsekretionskinetik mit einem Insulinsekretionsmaximum nach 120 Minuten. Der Vergleich der beiden Untersuchungsgruppen wies bei den Patienten mit bereits manifester Störung der Glukosetoleranz in den 60- und 120-Minunten-Werten signifikant niedrigere Insulinspiegel im Vergleich zu den Patienten mit normaler Glukosetoleranztestung auf. Dies zeigt, daß in diesen Fällen entsprechend der oralen Glukosetoleranzstörung der Grad der B-Zellinsuffizienz ausgeprägter ist.

Bei der Unterteilung dieser Patienten nach dem Grade der Pankreasgangveränderungen in der ERCP kann ein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten mit Pankreasgangveränderungen II. Grades und den Patienten mit Pankreasgangveränderungen III. Grades nachgewiesen werden. Dabei lag bei den Patienten mit Pankreasgangveränderungen III. Grades der Insulinspiegel um die Hälfte niedriger als bei den Patienten mit Pankreasgangveränderungen II. Grades. Dies gilt für alle Untersuchungszeiten.

Zusammenfassend stellt die enzymimmunologische Bestimmung

des Seruminsulins eine praktikable Alternative zur Insulinbestimmung mittels Radio-Immuno-Assay dar. Die Verbesserung der Auflösung in den niedrigeren Konzentrationsbereichen sollte noch angestrebt werden.

F. Literaturverzeichnis

1) ALBERT, W. H. W., KLEINHAMMER, G., LINKE, R., STAEHLER, F.
Quantitative Determination of Proteins at the pMol/L-level by Enzymimmunoassay (EIA) in antibody coated polystyrene tubes.
In: Pal, S. B. (Ed.)
Enzyme Labelled Immonoassay of Hormones and Drups
Berlin, New York. De Gruyter (1978)

2) ANDERSON, E., WHERRY, E. F., BATES, R. W.
Method of extraction and bioassay of insulin in blood.
Endocrinology 68, 298 - 304 (1961)

3) ANDERSON, J. W., KILBOURN, K. J., ROBINSON, J., WRIGHT, P. H.
Diabetic acidosis in rats treated with anti-insulinserum
Clin. Sci. 24, 417 (1963)

4) ASHFORD, W. R., CAMPBELL, J., DAVIDSON, J. K., FISHER, A. M., HAIST, R. E., LACEY, A. H., LIN, B., MARTIN, J. M., MORLEY, N. H., RASTOGI, K., STORVICK, W. O.
Diabetes 18, 828 (1969)

5) AVRAMEAS, S., GUILBERT, B.
Enzyme-immunoassay for the measurement of antigens using peroxidase conjugates.
Biochemie 54, 837 (1972)

6) BAGDADE, J. D., PORTE, D., BIERMAN, E. L.
The interaction of diabetes and obesity on the regulation of fat mobilization in man.
Diabetes 18, 759 (1969)

7) BAIRD, C. W., BORNSTEIN, J.
Assay of insulin-like activity in the plasma of normal and diabetic human subjects.
J. clin. Invest. 38, 2017 (1959)

8) BANK, S., MARKS, I. N., VINIK, A. I.
Clinical and Hormonal Aspects of Pancreatic Diabetes.
Am. J. Gastroenterol. 64, 13 (1975)

9) BERGER, M., BERCHTHOLDT, P., CÜPPERS, H.-J., GRÜNEKLEE, D., WIEGELMANN, W., SCHÜTTE, M., GRIES, F. A., ZIMMERMANN, H.
Neue Gesichtspunkte zur klinischen Diagnostik von Insulinomen.
Med. Welt 27, 1105 (1976)

10) BERGMEYER, H. V., BERNT, E., SCHMIDT, F., STORK, H.
D-Glukose-Bestimmung mit Hexokinase und Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase.
In: Bergmeyer, H. V. (Hrsg.)
Methoden der enzymatischen Analyse, 3. Aufl., S. 1241
Weinheim, Verlag Chemie (1974)

11) BÖTTGER, I., LÖFFLER, G.
In: Schwiegk, H. (Hrsg.)
Handbuch der Inneren Medizin, Bd. III, Teil 6,
S. 374 - 375
Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1976)

12) BORNER, K., BACHMANN, C., COLOMBO, J. P., HAECKEL, R., OELLERICH, M., WESTERINK, D., FISCHER, M., WIMMER, P., VOGT, W., TAUSCH, A., KNEDEL, M., MINDER, N., BLUM, J., PORTENHAUSER, R.
Bestimmung von Thyroxin mit einem heterogenen Enzym-immunoassay: Ergebnisse einer gemeinsamen Erprobung.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 17, 471 - 481 (1979)

13) BORNER, K.
Die Bestimmung von Gesamtthyroxin im Serum - Erfahrungen mit einem heterogenen Enzymimmunoassay (ELISA).
In: Vogt, W. (Hrsg.), Praktische Anwendung des Enzymimmunoassay in klinischer Chemie und Serologie. Thieme, Stgt., S. 28 - 29 (1979)

14) BORNSTEIN, J., LAWRENCE, R. D.
Plasmainsulin in human diabetes.
Brit. Med. J., 2, (1951)

15) BORNSTEIN, J., LAWRENCE, R. D.
Two types of diabetes with and without available plasmainsulin.
Brit. Med. J., 1, 793 (1951)

16) BUCHANAN, K. D., MCKIDDIE, M. T.
The normal insulin response to glucose. The relationship between sugar and plasma insulin.
Diabetologia 3, 450 (1967)

17) CATT, K. J.
Radioimmunoassay with antibody-coated discs and tubes.
Acta Endocr. (Kbh.) 63 (Suppl. 142), 222 (1969)

18) DAWEKE, H.
Bestimmung der insulinähnlichen Aktivität im Blut des Menschen unter normalen und pathologischen Bedingungen.
Habil. Schrift, D'dorf (1964)

19) DAWEKE, H., GROTE, W., GRIES, F. A., LIEBERMEISTER, H.
Zur Genetik des Diabetes mellitus: Glukosetoleranz, Seruminsulin und freie Fettsäuren bei eineiigen Zwillingen.
Dtsch. Med. Wschr. 18, 983 - 988 (1970)

20) DITSCHUNEIT, H., FAULHABER, J. D.
Die biologische Bestimmung der insulinähnlichen Aktivität (ILA).
In: E. F. Pfeiffer (Hrsg.), Handbuch des Diabetes mellitus.
Lehmann, München, p. 41 (1971)

21) DUNN, J. S., SHEEHAN, H. L., MCLETCHIE, N. G.
Necrosis of the islets of Langerhans produced experimentally.
Lancet I, 484 (1943)

22) ENGVALL, E., PERLMANN, P.
Enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA) - quantitative assay of immunglobuline G.
Immunochemistry 8, 871 (1971)

23) FAJANS, S. S., FLOYD, J. C., CONN, J. W., PEK, S., RULI, J., KNOPF, R. F.
Plasma insulin response to ingested glucose and to infused amino acids in subclinical diabetes and prediabetes.
6th Congr. Intern. Diab. Fed., Stockholm 1967
In: J. Ostmann (Ed.), Diabetes, Exercepta Med. Found, Amsterdam, S. 515 (1969)

24) FINLEY, P. R., WILLIAMS, R. J., BYERS III, J. M.
Assay of Phenytoin: Adaptation of "EMIT" to the Centrifugal Analyzer.
Clin. Chem. 22, 911 (1976)

25) FRANKE, F.
Die klinische Bedeutung der radio-immunologischen Bestimmung von Insulin.
Schweiz. Rundschau Med. (Praxis) 60, 1504 (1977)

26) FROESCH, E. R., BÜRGI, H., MÜLLER, W. A., RUMBEL, R. E., JACOB, A., LABHART, A.
Nonsuppressible insulin like activity of human serum. Purification, physiochemical and biological properties and its relation to total serum ILA.
Recent Progr. Hormone Res. 23, 565 (1967)

27) GENUTH, S. M.
Plasma insulin response to an oral carbohydrate solution.
Diabetes 18, 434 (1969)

28) GRABNER, W., PHILLIP, J., MAYER, A., DANIEL, U., MATZKIES, F.
Nachweis inkretorischer Funktionsstörungen bei chron. Pankreatitis.
Dtsch. Med. Wschr. 99, 445 (1974)

29) GRABNER, W., SCHARRER, H., STRIGL, P., PHILLIP, J., SOMMER, B., BERGNER, D., BERG, G.
Insulinreserven bei chron. Pankreaserkrankungen.
7. Kongreß der Deutschen Diabetesgesellschaft, Bad Nauheim (1972)

30) GRIES, F. A., BERCHTOLD, P., BERGER, M.
Adipositas.
Pathophysiologie, Klinik u. Therapie, S. 68, Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1976)

31) GROEN, J., GELD, H. v. d., BOLLINGER, R. E., WILLEBRANDS, A.
The anti-insulin effect of epinephrine. Its significance for the determination of serum insulin by rat diaphragma method.
Diabetes 7, 272 - 277 (1958)

32) GUTSCHE, H.
Oraler Glukosetoleranztest mit 100 g Glukose und 100 g Oligosacchariden.
Therapie d. Gegenwart, Heft 3, 438 - 444 (1975)

33) HAECKEL, R., OELLERICH, M.
Enzymimmunotests für die Routinediagnostik.
Lab. Med. 1, 1 (1977)

34) HALES, C. N., RANDLE, P. J.
Immunoassay of insulin with insulin - antibody precipitate.
Biochem. J. 88, 137 (1963)

35) HASLBECK, M.
Diagnostische Probleme bei Diabetes mellitus.
Internist 22, 187 (1981)

36) HASLBECK, M., SILBERKORN, H., KRAUS, B., BACHMANN, W.
Prognostic value of OGTT: Ten years follow up of patients with impaired and equivocal glucose tolerance.
Diabetologia, 19, 281 (1980)

37) HAUPT, E., PETZOLDT, R., PROBST, S., SCHÖFFLING, K.
Oraler Glukosetoleranztest - mit oder ohne Insulinbestimmung?
Dtsch. Med. Wschr. 106, 798 - 803 (1981)

38) HAUSMANN, L.
Radioimmunologische Insulinbestimmung für die Klinik.
Diagnostik 7, 21 - 23 (1974)

39) HERBERT, V., LAU, K.-S., GOTTLIEB, C. W., BLEICHER, S.
Coated charcoal immunoassay of insulin.
J. Clin. Endocr. 25, 1375 - 1384 (1965)

40) JAHNKE, K. A., REIS, H. E., JAHNKE, K.
Beurteilung der B-Zellfunktion des Diabetikers durch Bestimmung der endogenen Insulinsekretion nach Glukose-Tolbutamidstimulation.
Med. Welt 27, 2293 (1976)

41) JAHNKE, K., JAHNKE, K.A., REIS, H. E.
Über die Regenerationsfähigkeit der B-Zellen-Funktion bei adipösen Diabetikern nach Gewichtsreduktion.
Dtsch. Med. Wschr. 101, 73 - 76 (1976)

42) JAHNKE, K. A.
Untersuchungen der reaktiven Insulinämie nach konsekutiver Glukose-Tolbutamid-Stimulation.
Inaugural-Dissert. S. 10 (1977)
Med. Fak. Univ. Köln

43) KÖBBERLING, J.
Zur Wertigkeit des oralen Glukosetoleranztestes. Die Notwendigkeit einer Neubetrachtung.
Internist 21, 213 (1980)

44) KRAUSE, V., BEYER, J., CORDES, U., HAPP, J.
Serum-C-Peptidspiegel und Seruminsulin bei Patienten mit Hypoglycämien sowie unterschiedlichen Über- und Unterfunktionszuständen des Inselsystems.
Radiopharmazeutika Information BYK-Mallinckrodt, 1578 (1977)

45) LABHART, A.
Klinik d. Inneren Sekretion.
2. Aufl., Springer, Berlin (1971)

46) LANKISCH, P. G., FUCHS, K., SCHMIDT, H., PEIPER, H. J., CREUTZFELD, W.
Ergebnisse der operativen Behandlung der chronischen Pankreatitis unter besonderer Berücksichtigung der endokrinen Funktionen.
Dtsch. Med. Wschr. 100, 1084 (1975)

47) LIEBERMEISTER, H. H., DAWERE, H., GRIES, F. A., SCHILLING, W. H., GRÜNEKLEE, D.
Einfluß der Gewichtsreduktion auf Metabolite des Kohlehydrat- und Fettstoffwechsels und auf das Verhalten des Seruminsulins bei Adipösen.
Diabetologica 4, 123 - 132 (1967)

48) LIVESEY, J. H., HODGKINSON, S. C., ROUD, H. R., DONALD, R. A.
Effect of Time, Temperature and Freezing on the Stability of immunoreactive LH, FSH, TSH, Growth Hormone, Prolactin and Insulin in Plasma.
Clin. Biochem. 13, 151 - 155 (1980)

49) LÖFFLER, A., STADELMANN, O., WOBSER, E., MIEDERER, S. E.
Pankreatitis: Pankreatikogramm und exokrine Pankreasfunktion.
Leber Magen Darm 4, 195 (1974)

50) LÖFFLER, G.
Immunologische Bestimmung von Insulin.
In: Anwendung immunologischer Methoden.
Hrsg. H. Land, W. Rick, L. Röka
S. 169 ff., Springer, Berlin, Heidelberg, N. Y. (1975)

51) MARBLE, A.
Current concepts of diabetes.
In: Joslin's Diabetes mellitus.
11th ed., Chapt. 1, p. 2
Lea u. Febinger, Philadelphia (1971)

52) MEADE, R. C., KLITGAARD, H. M.
A simplified method for immunoassay of human serum insulin.
J. nuch. Med. 3, 40) (1962)

53) MEHNERT, H.
Diabetes mellitus.
In: Hornbostel, H., Kaufmann, W., Siegenthaler, W.
Innere Medizin in Klinik und Praxis.
Band IV, 17.6 Thieme, Stuttg. (1978)

54) MELANI, F.
In: Pfeiffer, E. F. (Hrsg.)
Handbuch des Diabetes mellitus.
Bd. II, S. 69, S. F. Lehmanns, München (1971)

55) MELANI, F., DITSCHUNEIT, H., BARTELT, K. M.,
FRIEDRICHS, E. F., PFEIFFER, E. F.
Über die radioimmunologische Bestimmung von Insulin im Blut.
Klin. Wschr. 43, 1000 (1971)

56) MERING, J., MINKOWSKI, O.
Diabetes mellitus nach Pankreasexstirpation.
Nanyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakolog.
26, 371 (1890)

57) MOSS, N. H., RHOADS, J. E.
Hyperinsulinism and Islet Cell Tumors of the Pankreas.
In: Howard u. Jordans: Surgical Diseases of the Pancreas.
Lippincott, Philadelphia (1960)

58) NATIONAL DIABETES DATA GROUP
Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance.
Diabetes 28, 1039 (1979)

59) OTTE, M., STAHLHEBER, H., ZOELCH, M., FORELL, M. M., THURMAYR, R.
Pankreassekretion des Menschen nach Stimulation mit Cholezystokinin/Pankreozymin, Sekretin und Galle. Methodik und Normalwerte.
Klin. Wschr. 51, 915 (1973)

60) OWENS, D., WRAGG, K., INZIO, S., KIMBER, G., DAVIES, C.
Comparison of the metabolic response to a glucose tolerancetest and a standardized test meal in normal healthy subjects.
Diabetes Care 2, 409 (1979)

61) PFEIFFER, E. F.
Die heutige Auffassung von der Pathogenese des menschlichen Diabetes mellitus.
Dtsch. Ärztebl. 62, 70 (1965)

62) PFEIFFER, E. F.
Obesity, hyperinsulinism and diabetes mellitus: facts and hypotheses.
Proc. Royal Soc. Med. 62, 355 (1969)

63) PFEIFFER, E. F., DITSCHUNEIT, H., ZIEGLER, R.
Über die Bestimmung von Insulin im Blut am epididymalen Fettanhang der Ratte mit Hilfe markierter Glukose IV. Die Dynamik der Insulinsekretion des Stoffwechselgesunden und des Altersdiabetes nach wiederholter Belastung mit Glucose, Sulfonylharnstoffen und menschlichem Wachstumshormon. Ein Beitrag zur Pathogenese des menschlichen Altersdiabetes.
Klin. Wschr. 39, 415 (1961)

64) RAKIETEN, N., RAKIETEN, M. L., NADKARNI, M. V.
Studies of the diabetogenic action of Streptozotocin (NSC - 37917)
Cancer Chemotherapy, Rept. 29, 91 (1963)

65) REAVEN, F., MILLER, R.
Study of the relationship between glucose and insulin response to an oral glucose load in man.
Diabetes 17, 560 (1968)

66) REIS, H. E., HOFFMANN, E., DROST, H., USMIANI, J., GEBHARDT, C., JAHNKE, K., GRIES, F. A.
Insulin und Glukagonsekretion nach Pankreasgang-okklusion bei chronischer Pankreatitis.
Z. Gastroenterol. 18, 407 (1980)

67) RENOLD, A. E.
Zur Pathogenese des Diabetes mellitus.
Verhdlg. d. Dtsch. Ges. inn. Med. 72, 839 (1966)

68) RENOLD, A. E., MARTIN, D. B., DAGENAIS, Y. M., STEINKE, J., NICKERSON, R. J., SHEPS, M. C.
Measurement of small quantities of insulin like activity using rat adipose tissue. A proposal procedure.
J. clin. Invest. 39, 1487 (1960)

69) Richtlinien der Bundesärztekammer zur Durchführung von Maßnahmen der statistischen Qualitätskontrolle und von Ringversuchen in der Heilkunde.
Dtsch. Ärzteblatt 68, 2228 (1971)

70) RICK, W.
Klinische Chemie und Mikroskopie.
3. Aufl., S. 177
Berlin, Heidelberg, New York
Springer (1974)

71) RICK, W.
Statistische Qualitätskontrolle.
In: Klinische Chemie und Mikrobiologie.
3. Aufl. S. 382, Springer,
Berlin, Heidelberg, New York (1974)

72) ROWLEY, G. L., RUBENSTEIN, K. E., HUISJEN, J.,
ULLMANN, E. F.
Mechanism by which antibodies inhibit hapten-malate
dehydrogenase conjugates.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 47, 3759 (1975)

73) RUBENSTEIN, K. E., SCHNEIDER, R. S., ULLMANN, E. F.
'Homogenous" enzyme immunoassay. A new immunochemical
technique.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 47, 846 (1972)

74) SACHSE, G., WILLMS, B.
Klinische Bedeutung der Seruminsulinbestimmung.
Med. Klin. 74, 1635 (1979)

75) SALANS, C. B., KNITTLE, J., HIRSCH, J.
The role of adipose cell size and adipose tissue
sensitivity in the carbohydrate intolerance in
human obesity.
J. clin. Invest. 47, 153 (1958)

76) SAVAGE, P. J., DIPPE, S. E., HENNETT, P. H.,
GORDEN, P., ROTH, J., RUSHFORTH, N. B., MILLER, M.
Hyperinsulinemia and Hypoinsulinemia. Insulin response
to oral carbohydrate over a wide spectrum of glucose
tolerance.
Diabetes 24, 362 (1975)

77) SCHAUDER, P., FRERICHS, H.
Klinische Bedeutung der Insulinbestimmung.
Med. Klinik 73, 217 (1978)

78) SCRIBA, P. C., SCHWARZ, K.
Hypothalamus und Hypophyse.
In: Klinische Pathophysiologie.
Hrsg. W. Siegenthaler
Thieme, Stuttgart, S. 252 (1970)

79) SIMON, E., KRAICHER, P. F.
The blockade of insulin secretion by mannoheptulose.
Israel J. Med. Sci. 2, 785 - 799 (1961)

80) SOLBACH, H. G., BETHGE, H., ZIMMERMANN, H.
Funktionsdiagnostik der Hypophysentumoren.
Symp. dtsch. Ges. Endokr. 15, 236 (1969)

81) STROHMEYER, G., GOTTESBÜREN, H., BEHR, C.
Diabetes mellitus bei akuter und chronischer
Pankreatitis.
Dtsch. med. Wschr. 99, 1481 (1974)

82) VALLANCE-OWEN, J., HURLOCK, B., PLEASE, N. W.
Plasma insulin activity in diabetes mellitus
measured by the rat diaphragma technique.
Lancet II, 583 (1955)

83) VAN WEEMEN, B. K., SCHUURS, A. H. W. M.
Immunoassay using antigen-enzyme conjugates.
FEBS lett. 15, 232 (1971)

84) VOGT, W., TAUSCH, A., JACOB, K., KNEDEL, M.
Die Mechanisierung des homogenen Enzymimmunoassays
mit einem Zentrifugenautomaten.
J. Clin. Chem. Biochem. 15, 194 (1977)

85) VOGT, W. (Hrsg.)
Praktische Anwendung des Enzymimmunoassays in
klinischer Chemie und Serologie.
Thieme, Stuttgart, (1979)

86) VOGT, W. (Hrsg.)
Enzymimmunoassay-Grundlagen und praktische Anwendung.
Thieme, Stuttgart, (1978)

87) VOGT, W.
Der Enzymimmunoassay, eine Alternative zum Radioimmunoassay.
Internist 22 : 308 - 312 (1981)

88) WEINGES, K. F.
Ist eine Neuorientierung der oralen Diabetes-behandlung nötig?
Med. Welt 23, 949 (1972)

89) WHO Expert Commitee on Diabetes mellitus
Tech. Rep. 646 (1980)

90) WIDE, L.
Radioimmunoassay employing immunosorbents.
Acta. Endocrinol. Suppl. 142, 207 - 221 (1966)

91) WIDE, L., PORATH, J.
Radioimmunoassay of proteins with the use of sephadex-coupled antibodies.
Biochem. Biophys. Acta 13, 257 - 260 (1966)

92) WILLEBRANDS, A. F., GROEN, J.
Determination of seruminsulin by the diaphragma method. Further observations in diabetic and nondiabetic subjects and in hyperinsulinism.
Diabetes 5, 378 (1956)

93) WILLMS, B.
Die Bedeutung der Serum-Insulin-Bestimmung für die Diagnostik und Therapie des Diabetes mellitus.
Münch. Med. Wschr. 117, 1643 (1975)

94) WISDOM, G. B.
Enzyme-Immunoassay.
Clin. Chem. 22, 1243 (1976)

95) WRENSHALL, G. A., BODOCH, A., RITCHIE, R. C.
Extractable insulin of pancreas.
Diabetes 1, 87 (1952)

96) YALOW, R. S., BERSON, S. A.
Plasma insulin concentrations in nondiabetic and early diabetic subjects.
Diabetes 9, 254 (1960)

97) YALOW, R. S., BERSON, S. A.
Immunoassay of endogenous plasma insulin in man.
J. clin. Invest. 39 (1960)

G. Lebenslauf

Am 2. 7. 1950 wurde ich als drittes von sechs Kindern des kaufmännischen Angestellten Friedrich Wilhelm Korsten und seiner Ehefrau Meta geb. Joeres in Rheydt, jetzt Mönchengladbach, geboren.

Ostern 1957 wurde ich in die Ev. Volksschule Wilhelmstraße in Viersen eingeschult. Nach bestandener Aufnahmeprüfung besuchte ich ab Ostern 1961 das Städtische humanistische Gymnasium Viersen, an dem ich 1969 die Reifeprüfung ablegte.

Nach zweijähriger Bundeswehrdienstzeit begann ich mit dem Sommersemester 1972 das Medizinstudium an der Universität Düsseldorf. Das Studium schloß ich im November 1978 mit der Ärztlichen Prüfung ab.

Seit dem 1. Januar 1979 bin ich als Assistenzarzt an der Medizinischen Klinik I und II des Krankenhauses Maria Hilf GmbH, Mönchengladbach, tätig.

Ich bin seit 1977 mit meiner Frau Gabriele geb. Thissen verheiratet. 1980 wurden unsere Tochter Anne und 1982 unsere Söhne David und Peter geboren.

Mönchengladbach, den 20. 2. 1983